การสังเคราะห์และการศึกษาคุณลักษณะของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

โดย

นางสาวกมลรักษ์ ชีวธนากรณ์กุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์และการศึกษาคุณลักษณะของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก

โดย

นางสาวกมลรักษ์ ชีวธนากรณ์กุล

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PECTIN-DEOXYCHOLIC ACID CONJUGATES

By

Kamonrak Cheewatanakornkool

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Program of Pharmaceutical Sciences

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2010

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “การสังเคราะห์และการศึกษาคุณลักษณะของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก” เสนอโดย นางสาวกมลรักษ์ ชีวธนากรณ์กุล เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

…….....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์
2. เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิต นิรัติศัย

..... ประธานกรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ อัครมงคลพร)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

...../...../.....

..... กรรมการ

(ดร. เอกกมล คล้ายเกิด)

...../...../.....

..... กรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิต นิรัติศัย)

...../...../.....

51361201 : สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์
คำสำคัญ : เพกติน/เพกตินที่ปรับสมบัติให้ไม่ชอบน้ำ/การดัดแปรทางเคมี

กมลรักษ์ ชีวธนากรณ์กุล : การสังเคราะห์และการศึกษาคุณลักษณะของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และ ผศ.ดร.สาธิต นิรัติศัย. 124 หน้า.

เพกตินเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่สามารถละลายน้ำได้ ไม่มีความเป็นพิษได้รับความสนใจในการนำมาศึกษาวิจัยเพื่อเป็นตัวพาในการนำส่งยา ในการศึกษาครั้งนี้เลือกเพกติน 2 กลุ่มคือ เพกตินชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์สูงกว่าและต่ำกว่าร้อยละ 50 นำมาดัดแปรเพื่อเพิ่มสมบัติความไม่ชอบน้ำโดยเชื่อมต่อกรดดีออกซีโคลิกลงบนโมเลกุลของเพกติน ขั้นตอนการสังเคราะห์เริ่มจากเชื่อมกรดดีออกซีโคลิกที่ตำแหน่งปลายด้านหมู่คาร์บอกซิลิกเข้ากับเอทิลีนไดเอมีน เพื่อใช้ปลายเอมีนสำหรับเข้าทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับเพกติน โดยใช้สารไดเมทิลอะมิโน โพรพิลเอทิลคาร์โบไดอิไมด์ ไฮโดรคลอไรด์เป็นสารเชื่อมขวาง ได้สารผลิตภัณฑ์เอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ นำมาศึกษาคุณลักษณะโดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม โปรตอนและคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สารผลิตภัณฑ์เอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ที่ได้นำมาเชื่อมต่อกับโมเลกุลเพกติน ได้สารผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก ศึกษาผลของการเติมสารไฮดรอกซีซักซินิไมด์ต่ออัตราการแทนที่บนโมเลกุลของสารผลิตภัณฑ์ ศึกษายืนยันคุณลักษณะสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายโดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมทรี ฮอตสเตจไมโครสโกปี โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ การศึกษาสมบัติทางกายภาพของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก พบว่ามีค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้นในขณะที่ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาและค่าแรงตึงผิวลดลงเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน เมื่อวัดขนาดและลักษณะการกระจายของขนาดพบว่าขนาดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอม เพกตินดัดแปรมีความเป็นขั้วลดลงเมื่อทดสอบโดยละลายสารวาวแสงซึ่งไม่ละลายน้ำ การศึกษาความเสถียรหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือนพบความเปลี่ยนแปลงของเพกตินดัดแปรทั้งสองชนิด จากผลการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่าโมเลกุล เพกตินเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิกสามารถเตรียมได้โดยการดัดแปรโครงสร้างของเพกตินด้วยการควบคู่โดยปฏิกิริยาเคมี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1..... 2.....

51361201 : MAJOR : PHARMACEUTICAL SCIENCES
KEY WORDS : PECTIN/HYDROPHOBICALLY MODIFIED PECTIN/CHEMICAL MODIFICATION

KAMONRAK CHEEWATANAKORNKOOL : SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PECTIN-DEOXYCHOLIC ACID CONJUGATES. THESIS ADVISORS : ASSOC. PROF. PORNSAK SRIAMORNSAK, Ph.D., AND ASST. PROF. SATHIT NIRATISAI, Ph.D. 124 pp.

Pectin, a water-soluble and non-toxic biopolymer, has been received more attention as carrier for drug delivery. In this study, high methoxyl pectin (HMP) and low methoxyl pectin (LMP) were hydrophobically modified by couping of deoxycholic acid (DOCA) onto the pectin molecule. The hydrophobic segment was synthesized by cross-linking of DOCA with ethylenediamine using 1-ethyl-3-(3-dimethyaminopropyl) carbodiimide hydrochloride as cross-linker. The structure of N-deoxycholyl aminoethyl amide (DOC-$NH(CH_2)_2)NH_2$) produced during the cross-linking reaction was characterized by Fourier transform infrared spectrometry and proton and carbon nuclear magnetic resonance spectroscopy. The pectin-deoxycholic acid conjugates (PDAC) were then prepared by coupling DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ onto the pectin molecules. The effect of the addition of N-hydroxysuccinimide on the degree of substitution was also investigated. The structural characteristics of the PDAC were confirmed by Fourier transform infrared spectrometry, differential scanning calorimetry, hot stage microscopy and proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. The physical properties demonstrated higher pH and lower zeta potential, compared to pectin. The surface-active properties of the modified pectins demonstrated a lower surface tension than native pectin.The particle size and size distribution showed a small difference between native and modified pectin. Morphology of PDAC was observed by scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and atomic force microscopy. A decrease in polarity of the modified pectin was also confirmed by using hydrophobic fluorescence marker. The stability of PDAC after 3-month storage was slightly changed. The results demonstrated the success of structural modification of pectin by chemical conjugation.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Program of Pharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010
Student's signature ……..……..…
Thesis Advisors' signature 1……..……..……..… 2……..……..

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องการสังเคราะห์และการศึกษาคุณลักษณะของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิกสำเร็จลงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดีด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจาก เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และเภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิต นิรัติศัย ที่สละเวลาให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ รวมถึงการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลงได้อย่างสมบูรณ์ ผู้เขียนขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณเภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ อัครมงคลพร เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์ และดร. เอกกมล คล้ายเกิด ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานและคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัย จากเงินงบประมาณแผ่นดิน ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัยชิ้นนี้ให้เสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ทุกท่านที่ให้ความรู้ ให้สถานที่ในการทำงานวิจัย และให้คำปรึกษาอย่างดีเสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเภสัชเคมีและภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรมที่ช่วยให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ (วท.ม.) และเพื่อนๆ พี่ๆ ที่อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีเภสัชกรรมและกลุ่มวิจัยพอลิเมอร์ธรรมชาติสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมยา ทุกท่านที่ให้กำลังใจ ร่วมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณครอบครัวที่คอยให้ทำปรึกษา และแนะนำในเรื่องต่างๆ รวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่	
1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
สมมติฐานของการศึกษา	2
ขอบเขตของการศึกษา	2
2 ทบทวนวรรณกรรม	3
โพลีแซคคาไรด์	3
การดัดแปรโพลีแซคคาไรด์	7
การดัดแปรชีวโมเลกุลด้วยวิธีทางเคมี	7
ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งเอมีน	7
ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิล	13
ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิล	19
เคมีของการเชื่อมขวาง	23
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปรพอลิเมอร์จากธรรมชาติ	25
การดัดแปรเพิ่มสมบัติไม่ชอบน้ำสำหรับพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้	26
ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของอัลจิเนต	26
ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของไคโตแซน	32
ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของเดกซ์แทรน	40
ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของเพกติน	42
ข้อมูลเบื้องต้นของเพกติน	45
ความเสถียรทางเคมีของเพกติน	48
แนวทางการใช้เพกตินในปัจจุบัน	49

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ หน้า
การดัดแปรโดยโมเลกุลไม่ชอบน้ำ 50
กรดน้ำดีและเกลือน้ำดี 50
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดน้ำดี 52
3 วิธีดำเนินการวิจัย 53
สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 53
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 54
วิธีดำเนินการวิจัย 55
การดัดแปรโครงสร้างของเพกตินและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ 55
การเตรียมเอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ (DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$) 55
การเชื่อม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกติน 57
การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรโครงสร้างทางเคมีและการศึกษาการเกิดอันตรกิริยา 57
วิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม 57
วิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมทรี 58
วิธีกล้องจุลทรรศน์ฮอตสเตจ 58
วิธีสเปกโทรสโกปีชนิดนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ 59
ทดสอบและวิเคราะห์หาปริมาณของกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิล-เอสเทอร์และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ 59
การทดสอบและศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพ 59
ความเป็นกรดด่าง 60
ศักย์ไฟฟ้าซีตา 60
แรงตึงผิว 60
ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค 60
สัณฐานวิทยา 60
ลักษณะความไม่ชอบน้ำ 61
ความเสถียร 61
4 ผลและอภิปรายผลของการศึกษา 63
การดัดแปรโครงสร้างของเพกตินและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร 63

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ หน้า

การเตรียมเอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ (DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$)..... 63

การเชื่อม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกติน 66

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเพกตินดัดแปรโครงสร้างทางเคมีและศึกษา

การเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์กับกรดดีออกซีโคลิก 68

วิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม 68

วิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรี 72

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฮอตสเตจ 73

วิธีสเปกโทรสโกปีชนิดนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ 77

การวิเคราะห์หาปริมาณของกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิลเอสเทอร์

และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ..... 82

ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพ 84

ความเป็นกรดด่าง..... 84

ศักย์ไฟฟ้าซีตา..... 85

แรงตึงผิว..... 86

ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค 88

สัณฐานวิทยา 90

ลักษณะความไม่ชอบน้ำ..... 95

ความเสถียร 97

5 สรุปผลของการศึกษาวิจัย..... 99

บรรณานุกรม 101

ภาคผนวก 107

ประวัติผู้วิจัย 121

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์	4
2	แหล่งที่มาของโพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติ	5
3	โครงสร้างทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์	6
4	ชนิดของสารกลุ่มออกซิไดซิงที่นิยมใช้ในงานการสังเคราะห์และเชื่อมโยงข้ามโมเลกุล	21
5	ปริมาณเพกตินที่สกัดได้จากวัตถุดิบชนิดต่างกัน	47
6	ชนิดกรดน้ำดีและตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุล	51
7	ชนิดสารและตัวทำละลายที่ใช้การเชื่อมโยงข้าม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับโมเลกุลเพกติน	57
8	สรุปวิธีการที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ ศึกษาการเกิดอันตรกิริยาและทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินดัดแปร	62
9	อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่ง 1,606 และ 1,745 cm^{-1}	70
10	ตำแหน่งสัญญาณโปรตอนอ้างอิงของสารมาตรฐานเพกตินชนิด LMP โดยใช้ตัวทำละลาย D_2O	79
11	คำย่อ คำเต็มภาษาอังกฤษและคำเต็มภาษาไทย	108
12	ค่าที่ได้จากการวัดความสูงของพีกจากฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกโทรสโกปีสเปกทรัมชนิด ที่ 1,606 และ 1,745 cm^{-1}	110
13	ร้อยละของหมู่เมทอกซิล กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโครงสร้างสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรซึ่งใช้สัดส่วนโมลในการทำปฏิกิริยาระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เป็น 1:0.5	112
14	ร้อยละของหมู่เมทอกซิล กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโครงสร้างสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรซึ่งใช้สัดส่วนโมลในการทำปฏิกิริยาระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เป็น 1:1	112
15	ตำแหน่งสัญญาณอ้างอิงจากการทดสอบด้วยโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ของตัวทำละลายที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา	113
16	แรงตึงผิวของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก	114

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่		หน้า
17	แรงตึงผิวของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก	115
18	แรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก	116
19	แรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก	117
20	ขนาดอนุภาคของเพกตินชนิดต่างๆ	118
21	ศักย์ไฟฟ้าซีตาของเพกตินชนิดต่างๆ	118
22	ความเป็นกรดด่างของเพกตินชนิดต่างๆ	119
23	ความเข้มการวาวแสงของสารตัวอย่างก่อนผสมกับไนล์เรด	119
24	ความเข้มการวาวแสงของสารตัวอย่างหลังผสมกับไนล์เรด	120

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยปฏิกิริยาอัลคิลเลชันและเอซิลเลชัน	8
2	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยสารประกอบไอโซไทโอไซยาเนต	9
3	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์เอซิลเอไซด์.....	9
4	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์ซัลโฟนิลคลอไรด์.....	10
5	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอัลดีไฮด์และไกลออกซาล	11
6	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์อีพอกไซด์.....	12
7	การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยกรดแอนไฮไดร์.....	12
8	การเกิดปฏิกิริยาที่หมู่เอมีนโดยเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์	13
9	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มอัลคิลเลตและกลุ่มเอซิลเลต	14
10	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยการออกซิเดชันของสารกลุ่มเพอริโอเดต	15
11	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล...	16
12	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลกลุ่มไดซักซินิลคาร์บอเนตและไฮดรอกซักซินิมิดิลคลอโรฟอร์เมต	17
13	ตัวอย่างการดัดแปรหมู่ไฮดรอกซิลของเดกซ์แทรนโดยสารกลุ่มอัลคิลฮาโลเจน	17
14	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไอโซไซยาเนต	18
15	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยอีพอกไซด์และออกซิเรน	18
16	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไดอะโซอัลเคนและไดอะโซอะซิติล	19
17	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล...	20
18	การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลเกิดสารมัธยันตร์โอเอซิลไอโซยูเรีย	20
19	โครงสร้างเคมีของเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์.....	22
20	ปฏิกิริยาการเชื่อมโยงข้ามผ่านพันธะเอไมด์โดยใช้ เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ	22
21	โครงสร้างทางเคมีของเอทิลเมทิลอะมิโนโพรพิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์ (EDC)	24
22	ปฏิกิริยาของ EDC ในการเชื่อมโยงข้ามเปลี่ยนจากหมู่คาร์บอกซิลิกไปเป็นเอมีนโดยใช้สารเอทิลีนไดเอมีน	25

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่		หน้า
23	ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต	27
24	ขั้นตอนหลักในการดัดแปรอัลจิเนตด้วยคอเลสเตอรอล	28
25	ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารผลิตภัณฑ์อัลจิเนตดัดแปรและสารตั้งต้นโซเดียมอัลจิเนต	29
26	โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารผลิตภัณฑ์อัลจิเนตดัดแปรและสารตั้งต้นโซเดียมอัลจิเนตใช้ D_2O เป็นตัวทำละลาย	29
27	ขนาดและรูปแบบการกระจายขนาดของอนุภาคอัลจิเนตดัดแปร	30
28	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่งผ่านของอัลจิเนตดัดแปร	30
29	โครงสร้างเคมีของพอลิคาร์โพรแลกโทนและพอลิคาร์โพรแลกโทนไดออล	31
30	ขั้นตอนปฏิกิริยาสังเคราะห์อัลจิเนตเชื่อมโยงข้ามกับพอลิคาร์โพรแลกโทน	31
31	โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตแซน	33
32	ปฏิกิริยาสังเคราะห์อนุพันธ์ไคโตแซนที่สามารถละลายน้ำได้และสารอนุพันธ์ไคโตแซน	34
33	ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนน้ำหนักโมเลกุลต่ำและไคโตแซนดัดแปร	35
34	โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนน้ำหนักโมเลกุลต่ำและไคโตแซนดัดแปร	36
35	ปฏิกิริยาการดัดแปรไคโตแซนปรับสมบัติสำหรับใช้เตรียมในรูปแบบไมเซลล์	37
36	โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนและไคโตแซนดัดแปร	38
37	โครงสร้างทางเคมีของโอเลอิลคลอไรด์	39
38	โครงสร้างทางเคมีและภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านของสารผลิตภัณฑ์ไคโตแซนดัดแปร	39
39	ลักษณะการกระจายขนาดอนุภาคของไคโตแซนดัดแปร	40
40	โครงสร้างทางเคมีของเดกซ์แทรน	40
41	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ดัดแปรคาร์บอกซีเมทิลเดกซ์แทรน	41
42	โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลกาแลกทูโรนิกซึ่งเป็นสายหลักของเพกตินเชื่อมต่อด้วยพันธะอัลฟา (1→4) ไกลโคซิดิกและที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 มีการแทนที่แตกต่างกันตามแหล่งที่มาและการทำอนุพันธ์	42

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่		หน้า

43 โครงสร้างของเพกตินประกอบด้วยส่วนเรียบเป็นสายหลัก (กรดกาแลกทูโรนิก) และส่วนที่ต่อยื่นออกมาจากสายหลักชนิดน้ำตาลแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มาของเพกติน 43

44 ลำดับการเกิดปฏิกิริยาดัดแปรเพกตินด้วย 4-อะมิโนไทโอฟีนอล..... 44

45 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เพกติน-4-อะมิโนไทโอฟีนอล .. 44

46 ภาพวาดพืชและส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์พืช..... 46

47 ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชชั้นสูงและตำแหน่งที่พบเพกติน..... 47

48 โครงสร้างทางเคมีของกรดน้ำดี..... 51

49 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และการทำให้บริสุทธิ์..... 56

50 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาในการเตรียม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$..... 64

51 ภาพถ่ายแผ่นรงคเลขผิวบางปรากฏจุดวาวแสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 352 นาโนเมตรและภาพเขียนจำลองขนาดและระยะทางที่สารตัวอย่างเดินทางในวัฏภาคคงที่ 65

52 ปฏิกิริยาการเตรียมเพกตินเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก (pectin-deoxycholic acid conjugates)..... 67

53 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของกรดดีออกซีโคลิกและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ 68

54 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC 70

55 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC..... 71

56 ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรีเทอร์โมแกรมของสารมาตรฐานกรดดีออกซีโคลิกและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ 72

57 ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรีเทอร์โมแกรมของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร 73

58 ภาพถ่ายลักษณะของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ 74

59 ภาพถ่ายลักษณะของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ 75

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่		หน้า

60 ภาพถ่ายลักษณะของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ 76

61 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และกรดดีออกซีโคลิกโดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$ 77

62 คาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$ 78

63 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$ .. 79

64 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย D_2O 80

65 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$. 81

66 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย D_2O ... 82

67 ปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์ กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร 83

68 ปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์ กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆกัน 84

69 ความเป็นกรดด่างของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆกัน 85

70 ศักย์ไฟฟ้าซีตาของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆกัน 86

71 แรงตึงผิวของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิดต่างๆ 87

72 แรงตึงผิวของสารละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนักของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร 87

73 การกระจายขนาดของอนุภาคสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร 89

74 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร 90

75 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเพกตินดัดแปร 91

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ หน้า

76 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสารตั้งต้นเพกติน ชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC 92

77 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสารตั้งต้นเพกติน ชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC 93

78 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแรงอะตอมของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC 94

79 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแรงอะตอมของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC..... 95

80 ค่าการวาวแสงของสารละลายต่างๆ ก่อนผสมไนล์เรดของสารตั้งต้นเพกติน และเพกตินดัดแปร 96

81 ค่าการวาวแสงของสารละลายต่างๆ หลังผสมไนล์เรดของสารตั้งต้นเพกติน และเพกตินดัดแปร 97

82 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ที่เวลา เริ่มต้นและหลังเก็บไว้นาน 3 เดือน..... 98

83 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ที่เวลา เริ่มต้นและหลังเก็บไว้นาน 3 เดือน..... 98

84 ตัวอย่างการวัดค่าเปรียบเทียบคาร์บอกซิลิกอิสระกับหมู่คาร์บอกซิลของ เพกตินดัดแปรชนิด HMP ที่ตำแหน่ง 1,610 cm^{-1} 110

85 ตัวอย่างการวัดค่าเปรียบเทียบคาร์บอกซิลิกอิสระกับหมู่คาร์บอกซิลของเพกติน ดัดแปรชนิด HMP ที่ตำแหน่ง 1,745 cm^{-1} 111

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในช่วงเวลากว่าทศวรรษที่ผ่านมานักวิจัยทั่วโลกได้ให้ความสนใจในการพัฒนาด้านวัสดุศาสตร์ในรูปแบบต่างๆ เพื่อมุ่งหวังให้มีสมบัติใหม่ที่เหมาะสมและน่าสนใจ นำมาใช้ต่อยอดในทางการแพทย์และเภสัชกรรม ทั้งเพื่อการวินิจฉัยและการรักษา (Park et al. 2008 : 113-137) หรือเพื่อรองรับการใช้งานในภาคอุตสาหกรรมอาหารและยา งานวิจัยด้านวัสดุพอลิเมอร์นอกจากจะมุ่งเน้นไปที่การสังเคราะห์สร้างสารพอลิเมอร์ชนิดใหม่แล้วยังให้ความสนใจไปที่การดัดแปรโครงสร้างพอลิเมอร์โดยการเชื่อมต่อพอลิเมอร์กับสารอื่นๆ เพื่อปรับสมบัติของพอลิเมอร์ การเชื่อมต่อระหว่างพอลิเมอร์ต่างชนิดที่มีสมบัติต่างกันเพื่อให้เกิดการทำงานร่วมกันของพอลิเมอร์จนเกิดสมบัติเฉพาะที่น่าสนใจ เช่น การเชื่อมต่อแบบใช้พอลิเมอร์สองชนิดที่มีสมบัติการละลายแตกต่างกันต่อสลับกัน โดยใช้พอลิเอทิลีนออกไซด์และพอลิคาร์โบไฮเดรต พอลิเมอร์ที่เตรียมได้สามารถจัดเรียงตัวในรูปแบบไมเซลล์ขนาดเล็กระดับนาโนเมตรเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ สามารถใช้เป็นตัวพายาต้านมะเร็งที่ดีและช่วยลดพิษของยาต่อเซลล์ปกติ (Mahmud et al. 2008 : 823-934) หรือการใช้พอลิเมอร์ต่อสลับกันเพื่อช่วยแก้ปัญหายาละลายน้ำยาก โดยใช้พอลิเอทิลีนไกลคอลกับพอลิอะมิโนเอซิดเพื่อช่วยแก้ปัญหาในการนำส่งยารักษามะเร็งซึ่งมีปัญหาละลายน้ำได้ยาก (Yokoyama et al. 1998 : 219-229) เป็นต้น

พอลิเมอร์ที่มักถูกเลือกนำมาศึกษาวิจัยมีทั้งพอลิเมอร์สังเคราะห์และพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ พอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติมีข้อดีหลายประการ เช่น มีโครงสร้างและสมบัติที่หลากหลาย มีเสถียรภาพ มีสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ สามารถย่อยสลายได้โดยผ่านกระบวนการทางชีวภาพในร่างกาย ไม่ก่อพิษทั้งในมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Huatian et al. 2006 : 564-573) แต่พอลิเมอร์จากธรรมชาติก็มีข้อจำกัด เช่น ไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่หลากหลาย บางชนิดอาจมีปัญหาในการละลายหรือความหนืดทำให้นำไปใช้งานโดยตรงได้ยาก จึงมีนักวิจัยนำพอลิเมอร์มาดัดแปรเพื่อปรับปรุงสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ปรับสมบัติการละลายโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถนำไปใช้งานได้ง่ายและหลากหลายขึ้น งานวิจัยที่ดัดแปรพอลิเมอร์ตัวอย่างเช่น เดกซ์แทรนซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ดีดัดแปรโดยเชื่อมกับยาเพื่อเพิ่มค่า

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

การละลายและการนำส่งยาไอบูโพรเฟนและนาพร็อกซ์เซน (Honig et al. 2009 : 56-62) และดัดแปรด้วยแอลซิสเทอีนเพื่อเพิ่มสมบัติการยึดติดเยื่อเมือกและทำให้มีเสถียรภาพที่ดีขึ้นนำไปใช้สำหรับระบบนำส่งยา (Shahnaz et al. 2010 : 32-38) อัลจิเนตดัดแปรโดยการเชื่อมขวางกับคอเลสเตอรอลและอัลคิลสายยาวเพื่อให้สารอนุพันธ์อัลจิเนตมีความสามารถในการประกอบตัวเองได้เป็นอนุภาคขนาดนาโนเมตรเมื่อละลายในสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (Yang et al. 2007 : 218-225) และสามารถใช้นำส่งโปรตีนได้ (Leonard et al. 2004 : 395– 405)

จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำวิจัยและพัฒนา ซึ่งเพกตินเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ยังคงมีการศึกษาและวิจัยเพื่อการประยุกต์ใช้งานด้านอาหารและยาอยู่จำนวนน้อยและเมื่อพิจารณาจากสมบัติเบื้องต้นของเพกตินทั้งทางเคมีและกายภาพพบว่ามีสมบัติที่เหมาะสมที่จะนำมาวิจัยและพัฒนาให้เกิดประโยชน์ต่อไปได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. สังเคราะห์เพื่อดัดแปรโครงสร้างของเพกติน โดยการเติมกรดดีออกซีโคลิกลงไปบนสายหลักของเพกตินให้มีสมบัติความไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2. วิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและสมบัติทางเคมีกายภาพของเพกตินหลังจากเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก

สมมติฐานของการศึกษา

การเติมหมู่ฟังก์ชันที่ไม่ชอบน้ำเข้าไปจับที่สายหลัก หรือปลายด้านใดด้านหนึ่งของเพกติน จะลดสมบัติการละลายน้ำและเพิ่มสมบัติการเข้าจับกับสารที่ไม่ละลายน้ำหรือละลายในไขมันและตัวทำละลายอินทรีย์

ขอบเขตการศึกษา

การวิจัยนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาการดัดแปรโครงสร้างของเพกตินโดยเลือกจากเพกตินที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์ต่ำกว่าร้อยละ 50 และสูงกว่าร้อยละ 50 การเชื่อมขวางโมเลกุลไม่ชอบน้ำเข้าสู่สายหลักของพอลิเมอร์โดยเลือกกรดดีออกซีโคลิกซึ่งเป็นโมเลกุลที่ชอบไขมันมาใช้ในการศึกษาซึ่งจะมุ่งเน้นไปที่การเตรียม การสังเคราะห์และการเชื่อมขวาง การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ เพื่อมุ่งหวังจะมีการนำเพกตินที่ผ่านการดัดแปรไปใช้งานด้านวัสดุทางการแพทย์ระบบนำส่งยาไปยังอวัยวะเป้าหมายในร่างกายหรือใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่มุ่งเน้นการนำพอลิเมอร์มาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆอย่างกว้างขวางทั้งในรูปแบบที่ไม่ได้มีการดัดแปรโครงสร้างและรูปแบบที่มีการดัดแปรโครงสร้างแล้ว เช่น การวิจัยเพื่อดัดแปรโครงสร้างของไคโตแซนเพื่อเพิ่มความสามารถในการนำส่งยาหรือเปปไทด์ (Bernkop-Schnürch 2000 : 1-13) การศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเพกตินและไกลซิดริลเมทาไคเลตและสารอื่น เพื่อเตรียมฟิล์มที่มีความคงตัวและสามารถนำส่งยาสู่อวัยวะเป้าหมายได้ (Maior et al. 2008 : 184-194) การศึกษาเพื่อเพิ่มสารอะลิฟาติกสายตรงเพื่อดัดแปรสมบัติการละลายของไคโตแซน นำไปสู่การใช้งานในด้านการแพทย์และเภสัชกรรม (Onesippe and Lagerge 2008 : 648-658) และการศึกษาเพื่อดัดแปรโครงสร้างของอัลจิเนต ซึ่งส่งผลต่อการละลายของอัลจิเนต เพื่อจุดประสงค์การใช้งานในด้านการแพทย์และเภสัชกรรม (Huatia, Ngyuen and Kjøniksen 2006 : 563-574) จากรายงานการศึกษาและงานวิจัยพบว่าการดัดแปรโครงสร้างของพอลิเมอร์สามารถทำได้ทั้งวิธีทางเคมีและการใช้เอนไซม์ (Ortona et al. 2000 :16-22; Carrales et al. 2007 : 730-735; Buchholt et al. 2004 : 149-161)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1. โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide)

โพลีแซคคาไรด์เป็นพอลิเมอร์ของโมโนแซคคาไรด์ เป็นสารประกอบส่วนใหญ่ของสิ่งมีชีวิต ประกอบขึ้นจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก อาจมีโครงสร้างแบบง่ายที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพียงชนิดเดียวหรือประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิดที่มีโครงสร้างซับซ้อน ในสิ่งมีชีวิตโพลีแซคคาไรด์มักอยู่รวมกับสารพวกโปรตีนหรือไขมันซึ่งมีบทบาทหน้าที่ต่างๆ ทางชีวภาพอย่างหลากหลาย เช่น เป็นส่วนประกอบของอาหาร เป็นแหล่งพลังงานของสิ่งมีชีวิต ทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโครงร่างของสิ่งมีชีวิต ป้องกันสารอันตรายเข้าสู่เซลล์หรืออาจจะควบคุมปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันหรือวงจรเมตาโบลิกของสิ่งมีชีวิต ตัวอย่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์

ประเภท	น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว
เพนโทส (pentose)	ดีไซโลส (D-xylose), แอลอาราบิโนส (L-arabinose)
เฮกโซส (hexoses)	ดีกลูโคส (D-glucose), ดีแมนโนส (D-mannose) , ดีกาแลกโทส (D-galactose), แอลกาแลกโทส (L-galactose), ดีฟลุกโทส (D-fructose)
เฮกโซซามีนและเอ็นอะซิติล-เฮกโซซามีน (hexosamines, N-acetylhexosamines)	กลูโคซามีน (glucosamine), กาแลกโทซามีน (galactosamine) เอ็นอะซิติลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine), เอ็นอะซิติลกาแลกโตซามีน (N-acetylgalactosamine)
กรดยูโรนิก (uronic acid)	กรดกลูคิวโรนิก (D-glucuronic acid), กรดดีกาแลกทูโรนิก (D-galacturonic acid), กรดดีแมนนูโรนิก (D-mannuronic acid), กรดแอลไอดิวโรนิก (L-iduronic acid)
ดีออกซีเฮกโซส (deoxyhexoses)	แอลแรมโนส (L-rhamnose), แอลฟูโคส (L-fucose)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ที่มา : อมรรัตน์ ไชยเดชกำจร, “สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดโพลีแซคคาไรด์,” <u>ในการประชุมวิชาการเรื่องจับกระแส : การรักษาและยาใหม่ 3</u> (นครปฐม : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2551), 159-162.

ในธรรมชาติโพลีแซคคาไรด์มีแหล่งที่มาและโครงสร้างทางเคมีที่หลากหลายแสดงตัวอย่างดังตารางที่ 2 และ 3 โพลีแซคคาไรด์มีช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่กว้าง ส่วนประกอบทางเคมีและหมู่ฟังก์ชันที่สามารถทำปฏิกิริยาได้หลากหลายซึ่งทำให้เกิดสมบัติที่แตกต่างกันและทำให้โพลีแซคคาไรด์สามารถดัดแปรได้ทั้งทางเคมีและทางชีวภาพดังจะเห็นได้จากการมีอนุพันธ์ที่หลากหลายโดยส่วนใหญ่มีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) คาร์บอกซิล (-COOH) และเอมีน ($-NH_2$) การดัดแปรโดยวิธีทางเคมีจึงมักจะเกิดที่ตำแหน่งดังกล่าว (Liu 2008 : 1650-1662)

ตารางที่ 2 แหล่งที่มาของโพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติ

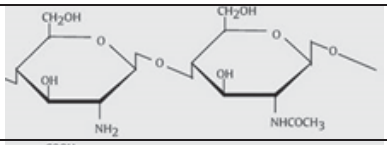
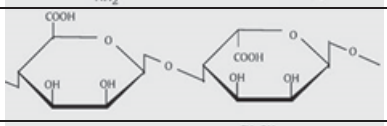
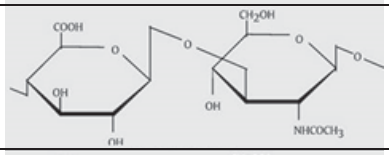
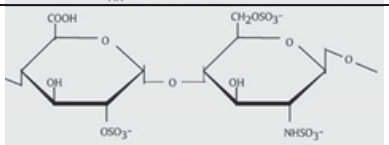
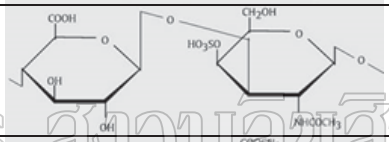
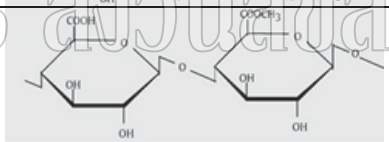
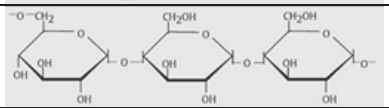
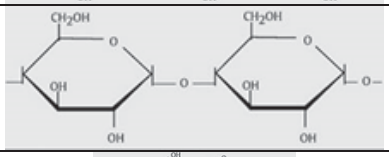
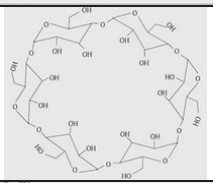
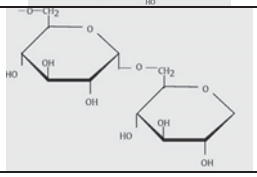
โพลีแซคคาไรด์	โครงสร้างทางเคมี	พันธะ	แหล่งกำเนิด
ไคติน (chitin)	2-อะมิโนดีออกซีดีกลูแคน (2-amino-deoxy-D-glucan)	เบตา 1→4 (β-1→4)	เปลือกกุ้ง ปู หอย และจุลชีพ
ไคโตแซน (chitosan)	เอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีน (N-acytyl-D-glucosamine)	เบตา 1→4 (β-1→4)	เปลือกกุ้ง ปู หอย และจุลชีพ
ไฮยาลูโรแนน (hyaluronan)	เอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีน (N-acytyl-D-glucosamine) และกรดดีกลูคูโรนิก (D-glucuronic acid)	เบตา 1→4 (β-1→4)	เนื้อเยื่อชั้นนอกของสัตว์มีกระดูกสันหลัง
เดกซ์แทรน (dextran)	ดีกลูโคพิวราโนส (D-glucopyranose)	อัลฟา 1→6 (α-1→6)	แบคทีเรีย
เซลลูโลส (cellulose)	ดีกลูโคส (D-glucose)	เบตา 1→4 (β-1→4)	พืช
พูลลูแลน (pullulan)	มอลโททริโอซิล (maltotriosyl)	อัลฟา 1→6 (α-1→6)	รา
อัลจิเนต (alginate)	ดีแมนนูโรนิก (D-mannuronic) แอลกูลูโรนิก (L-guluronic)	เบตาสำหรับดีแมนนูโรนิก อัลฟาสำหรับแอลกูลูโรนิก	สาหร่ายทะเล
เพกติน (pectin)	กรดดีกาแลกทูโรนิก (D-galacturonic acid)	อัลฟา 1 →4 ไกลโคซิดิก (α-1→6 glycosidic)	ผนังเซลล์พืชชั้นสูง

ที่มา : L. Zhonghua et al., “Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems,” Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008) : 1650-1662.

: O. J. Kwon et al., “Biopolymer-based microgel/nanogels for drug delivery application,” Progress in Polymer Science 34 (2009) : 1261-1282.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์

ชนิดของโพลีแซคคาไรด์	โครงสร้างทางเคมี
ไคโตแซน	
อัลจิเนต	
กรดไฮยาลูโรนิก	
เฮพาริน	
คอนดรอยทินซัลเฟต	
เพกติน	
พูลลูแลน	
อะไมโลส	
ไซโคลเดกซ์ทริน	
เดกซ์แทรน	

ที่มา : L. Zhonghua et al., “Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems,” Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008) : 1650-1662.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สมบัติที่ดีของโพลีแซคคาไรด์ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเลือกเพื่อนำมาใช้ในการศึกษา ได้แก่สกัดมาจากแหล่งธรรมชาติ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อหรือร่างกายมนุษย์ มีเสถียรภาพ พบความเป็นพิษต่ำ สามารถย่อยสลายได้โดยกระบวนการทางชีวภาพ อย่างไรก็ตาม โพลีแซคคาไรด์มีข้อจำกัดที่เป็นอุปสรรคในการนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ ได้แก่ ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายได้หลากหลาย สมบัติทางกายภาพ เช่น ความหนืดสูงเกินไปยากต่อการละลายเพื่อเตรียมตัวอย่างและยากต่อการควบคุมระยะเวลาการย่อยสลาย (Barbosa 2005 : 212-217)

นักวิจัยพิจารณาเล็งเห็นถึงประโยชน์และความปลอดภัยในการนำโพลีแซคคาไรด์มาใช้ จึงพยายามดัดแปรโพลีแซคคาไรด์ด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อมุ่งหวังปรับสมบัติทางเคมีกายภาพของโพลีแซคคาร์ไรด์ เช่น ปรับสมบัติการละลายเพื่อให้สามารถนำโพลีแซคคาไรด์ไปใช้งานได้ง่ายและขอบเขตการใช้งานกว้างขึ้น

2. การดัดแปรโพลีแซคคาไรด์

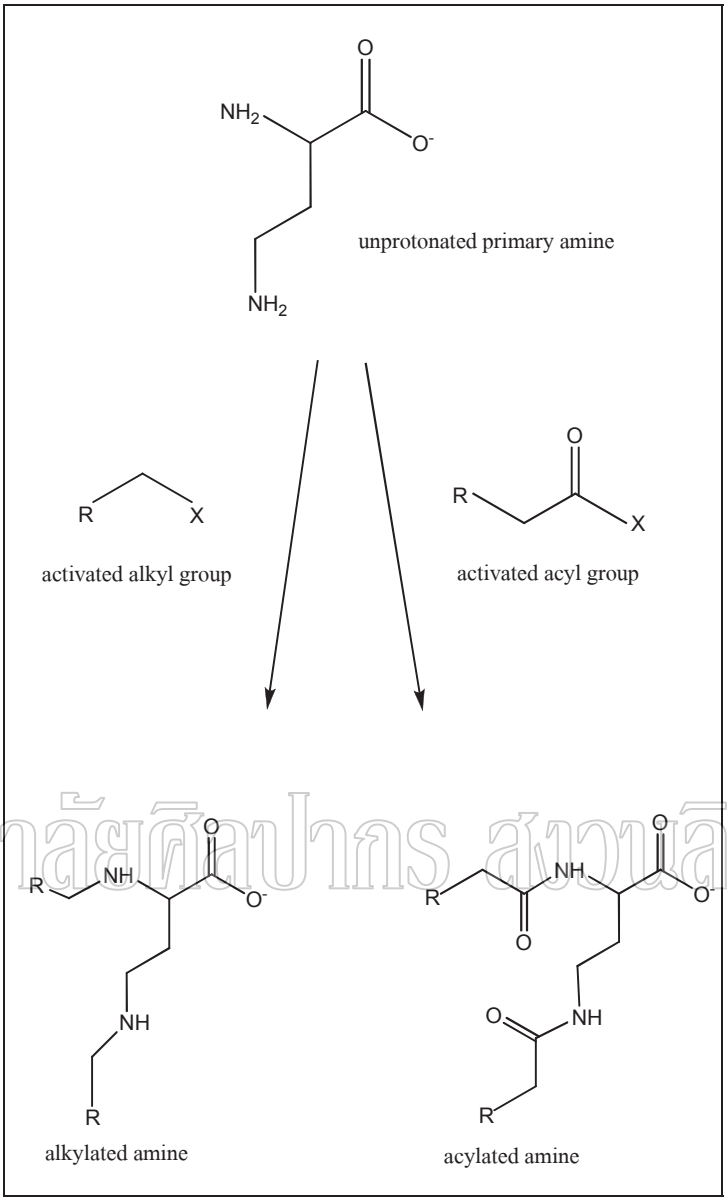
การดัดแปรโพลีแซคคาไรด์สามารถทำได้ทั้งวิธีทางชีวภาพโดยการใช้เอนไซม์และวิธีทางเคมี ซึ่งวิธีทางชีวภาพได้รับความนิยมน้อยกว่าเพราะมีข้อจำกัดในการใช้เอนไซม์ เช่น สภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ต้องควบคุมอย่างเข้มงวด ความยุ่งยากในการแยกเอนไซม์และผลิตภัณฑ์หลังทำปฏิกิริยาเสร็จสิ้นและความสามารถในการเตรียมปริมาณระดับอุตสาหกรรม (Oosterveld et al. 2002 : 73-81) เอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจงบางชนิดสกัดได้ยากและมีเสถียรภาพต่ำเมื่ออยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ (Gübitz and Paulo 2003 : 577-582) ดังนั้นนักวิจัยจึงนิยมดัดแปรโดยผ่านปฏิกิริยาทางเคมี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3. การดัดแปรชีวโมเลกุลด้วยวิธีทางเคมี (Hermanson 1996 : 137-174)

3.1 ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งเอมีน ($R\text{-}NH_2$)

3.1.1 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยใช้ปฏิกิริยาอัลคิลเลชันและปฏิกิริยาเอซิลเลชัน (ภาพที่ 1)



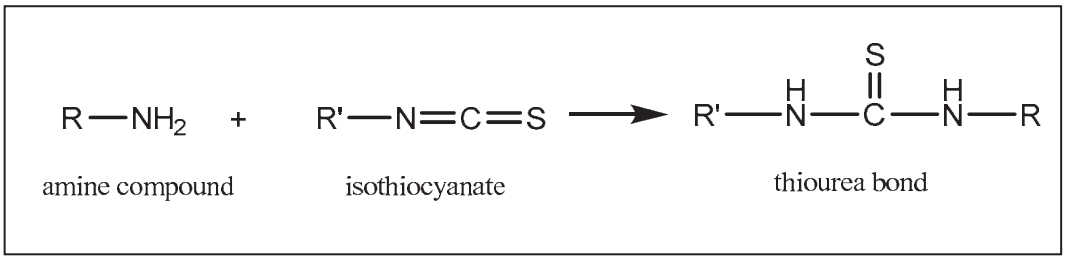
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 1 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยใช้ปฏิกิริยาอัลคิลเลชันและเอซิลเลชัน

3.1.2 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยสารประกอบไอโซไทโอไซยาเนต (isothiocyanate)

สารประกอบไอโซไทโอไซยาเนตมีที่มาจากอะโรมาติกเอมีนเกิดปฏิกิริยากับไทโอฟอสโฟจีน (thiophosphogene) สารที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้คือสารกลุ่ม นิวคลีโอไฟล์ เช่น เอมีน ซัลไฟล์ดริลและฟีโนเลตอิออนของไทโรซีน สารผลิตภัณฑ์มีเสถียรภาพที่สุดในกรณีเกิดปฏิกิริยากับเอมีนปฐมภูมิ การทำปฏิกิริยาด้วยสารกลุ่มไอโซไทโอไซยาเนตนี้จำเพาะเจาะจงกับ

การดัดแปรโมเลกุลแรกที่ติดกับคาร์บอนและโมเลกุลที่มีหมู่เอมีนอยู่ด้านปลาย (N-terminal) ปฏิกิริยาเริ่มที่นิวคลีโอไฟล์ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลคาร์บอนตรงกลางของโมเลกุลเพราะความเป็นอิเล็กโทรไฟล์ของหมู่ไอโซไทโอไซยาเนตทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่และสูญเสียโปรตอนเกิดเป็นพันธะไทโอยูเรีย (ภาพที่ 2)

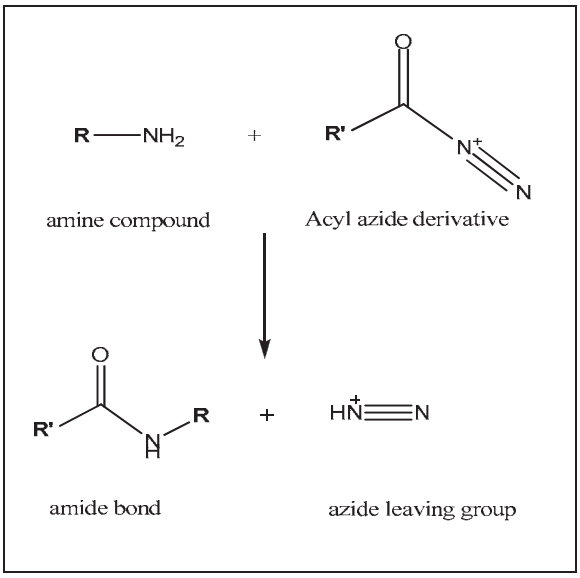


ภาพที่ 2 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยสารประกอบไอโซไทโอไซยาเนต

3.1.3 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์เอซิลเอไซด์ (acyl azide derivative)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

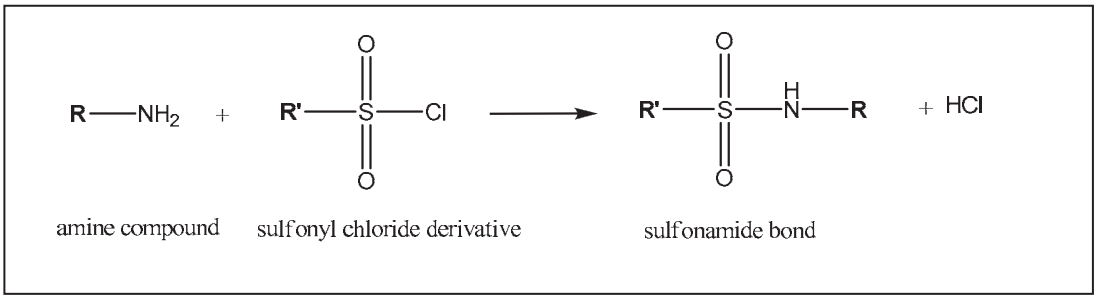
อนุพันธ์เอซิลเอไซด์จะถูกกระตุ้นที่หมู่คาร์บอกซิเลตทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนปฐมภูมิและหมู่ฟังก์ชันเอไซด์เป็นหมู่ที่สามารถหลุดออกไปได้ง่ายทำให้เกิดพันธะเอไมด์ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์เอซิลเอไซด์

3.1.4 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์ซัลโฟนิลคลอไรด์ (sulfonyl chloride compound derivative)

การเข้าทำปฏิกิริยาของนิวคลีโอไฟล์บนซัลโฟนิลคลอไรด์มีเสถียรภาพค่อนข้างต่ำ แต่เมื่อปฏิกิริยานี้เกิดกับโมเลกุลที่ประกอบด้วยเอมีนปฐมภูมิ จะปลดปล่อยอะตอมของคลอรีนและสร้างพันธะซัลโฟนาไมด์ (ภาพที่ 4)

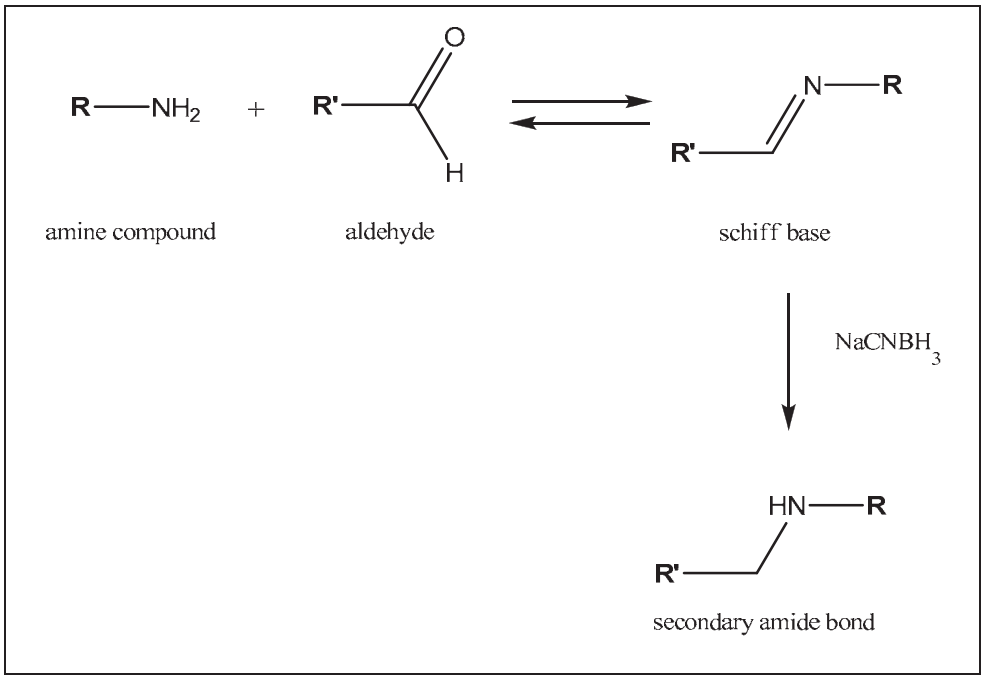


ภาพที่ 4 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์ซัลโฟนิลคลอไรด์

3.1.5 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอัลดีไฮด์ (aldehydes) และไกลออกซาล (glyoxals)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารประกอบประเภทหมู่คาร์บอนิล เช่น อัลดีไฮด์ คีโทนและไกลออกซาล สามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนเกิดสารมัธยันตร์ชิฟเบส (Schiff base) จากนั้นเติมโซเดียมบอโรไฮดราย (sodium borohydride; $NaBH_3$) หรือโซเดียมไซยาโนบอโรไฮดราย (sodium cyanoborohydride; $NaCNBH_3$) เพื่อกำจัดชิฟเบสและสร้างพันธะโควาเลนท์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือเอมีนทุตยภูมิ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอัลดีไฮด์

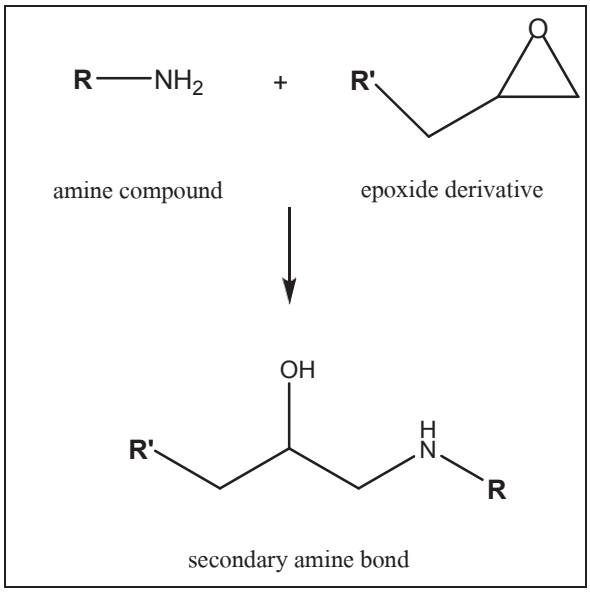
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3.1.6 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์อีพอกไซด์ (epoxide)

การเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยการเปิดวงของอีพอกไซด์ได้หมู่เบตาไฮดรอกซิล ภายใต้สภาวะที่มีความเป็นด่างสูงค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 11-12 ปฏิกิริยานี้สร้างพันธะเอมีนทุติยภูมิ (ภาพที่ 6)

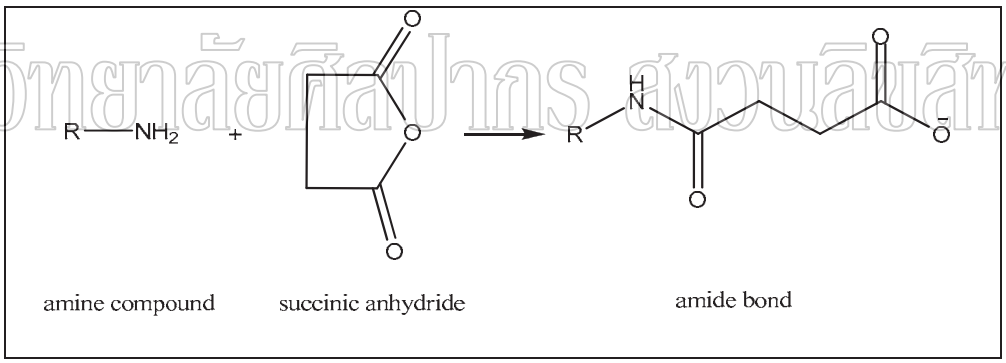
3.1.7 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยกรดแอนไฮไดร์ (acid anhydride)

กรดแอนไฮไดร์เกิดจากปฏิกิริยาดีไฮเดรชันของหมู่คาร์บอกซิลิกสองหมู่การทำปฏิกิริยาของสารกลุ่มแอนไฮไดร์ ตัวอย่างเช่น ซักซินิกแอนไฮไดร์เกิดเป็นเอมีนที่ถูกอะซิเลตซึ่งประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิเลต (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 6 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยอนุพันธ์อีพอกไซด์

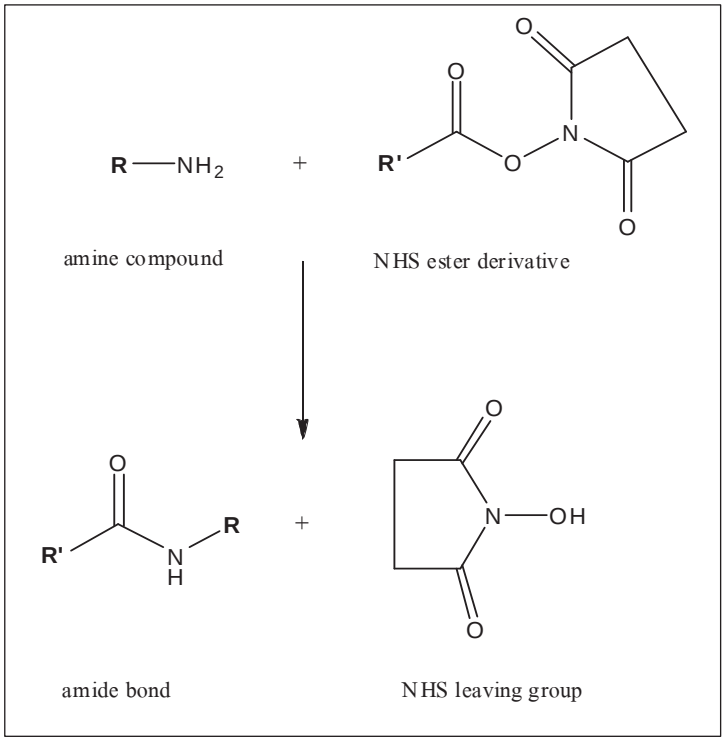
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 7 การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเอมีนโดยกรดแอนไฮไดร์

3.1.8 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งเอมีนโดยเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (N-hydroxysuccinimide; NHS)

ปฏิกิริยานี้สามารถพบได้โดยทั่วไปในปฏิกิริยาการกระตุ้นที่หมู่เอมีนสำหรับการดัดแปรโมเลกุลที่มีหมู่ฟังก์ชันเอมีนนิยมใช้เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ซึ่งสามารถเข้าทำปฏิกิริยาที่โมเลกุลที่มีความเป็นนิวคลีโอไฟล์และสามารถหลุดออกไปได้โดยง่ายภายหลังเชื่อมทั้งสองโมเลกุลเข้าด้วยกันแต่ปฏิกิริยาถูกรบกวนได้ง่ายหากมีน้ำในระบบจึงควรทำปฏิกิริยานี้ในระบบตัวทำละลายอินทรีย์ (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 การเกิดปฏิกิริยาที่หมู่เอมีนโดยเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (NHS)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3.2 ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิล (R-OH)

3.2.1 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มอัลคิล (alkylating agent) และกลุ่มเอซิล (acylating agent) เกิดพันธะอีเทอร์และเอสเทอร์ตามลำดับ (ภาพที่ 9)

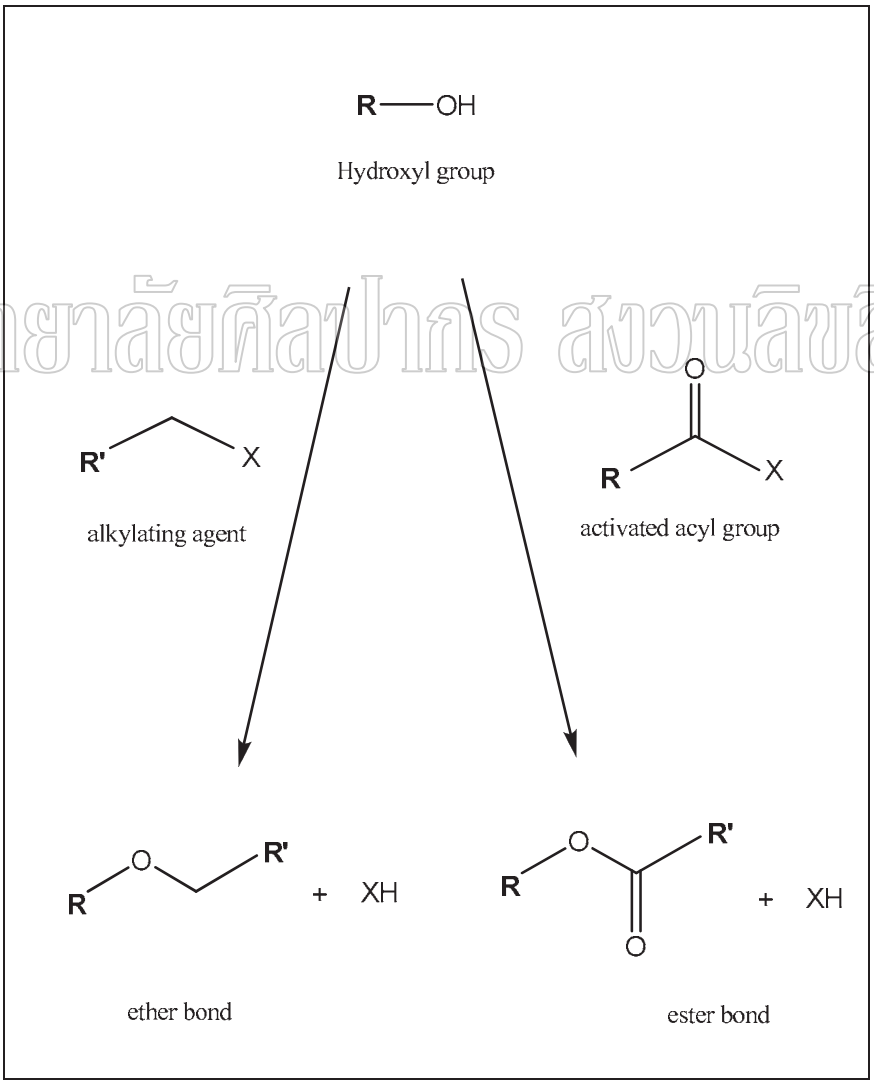
3.2.2 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยการออกซิเดชันของสารกลุ่มเพอริโอเดต (periodate)

สารกลุ่มเพอริโอเดต เช่นโซเดียมเพอริโอเดต (sodium periodate; $NaIO_4$) สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อออกซิไดซ์คาร์บอนในตำแหน่งที่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิล เกิดเป็นอัลดีไอด์ที่พร้อมจะเชื่อมต่อกับโมเลกุลที่มีหมู่เอมีนหรือไฮดราไซด์ โดยเกิดปฏิกิริยาได้ 3 รูปแบบหลักๆ ปฏิกิริยาแรกเกิดในโมเลกุลที่มีคาร์บอนซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลติดกัน 2 คาร์บอน พันธะระหว่าง 2 คาร์บอนจะถูกตัดแยกออกเป็นสองโมเลกุลที่มีด้านปลายเป็นอัลดีไอด์ ปฏิกิริยาที่สองกรณีที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งเป็นหมู่ไดออล (terminal diol group) เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดโมเลกุลฟอร์มัลดีไอด์และอัลดีไอด์ที่ปลายด้านไดออล ปฏิกิริยาที่สามปฏิกิริยานี้จะสร้างปลายซึ่งพร้อมจะทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อสำหรับคาร์โบไฮเดรตหรือไกลโคโปรตีน โซเดียมเพอริโอเดตเข้าทำปฏิกิริยาที่อนุพันธ์ไฮดรอกซิลเอมีน ประกอบด้วยเอมีนปฐมภูมิและหมู่ไฮดรอกซิลทุติยภูมิบน

คาร์บอนถัดจากหมู่ไฮดรอกซิล การออกซิเดชันจะแยกคาร์บอนออกจากกัน โมเลกุลจากด้านที่เคยมีหมู่ไฮดรอกซิลเกิดเป็นอัลดีไฮด์และเกิดโมเลกุลฟอร์มัลดีไฮด์ (ภาพที่ 10)

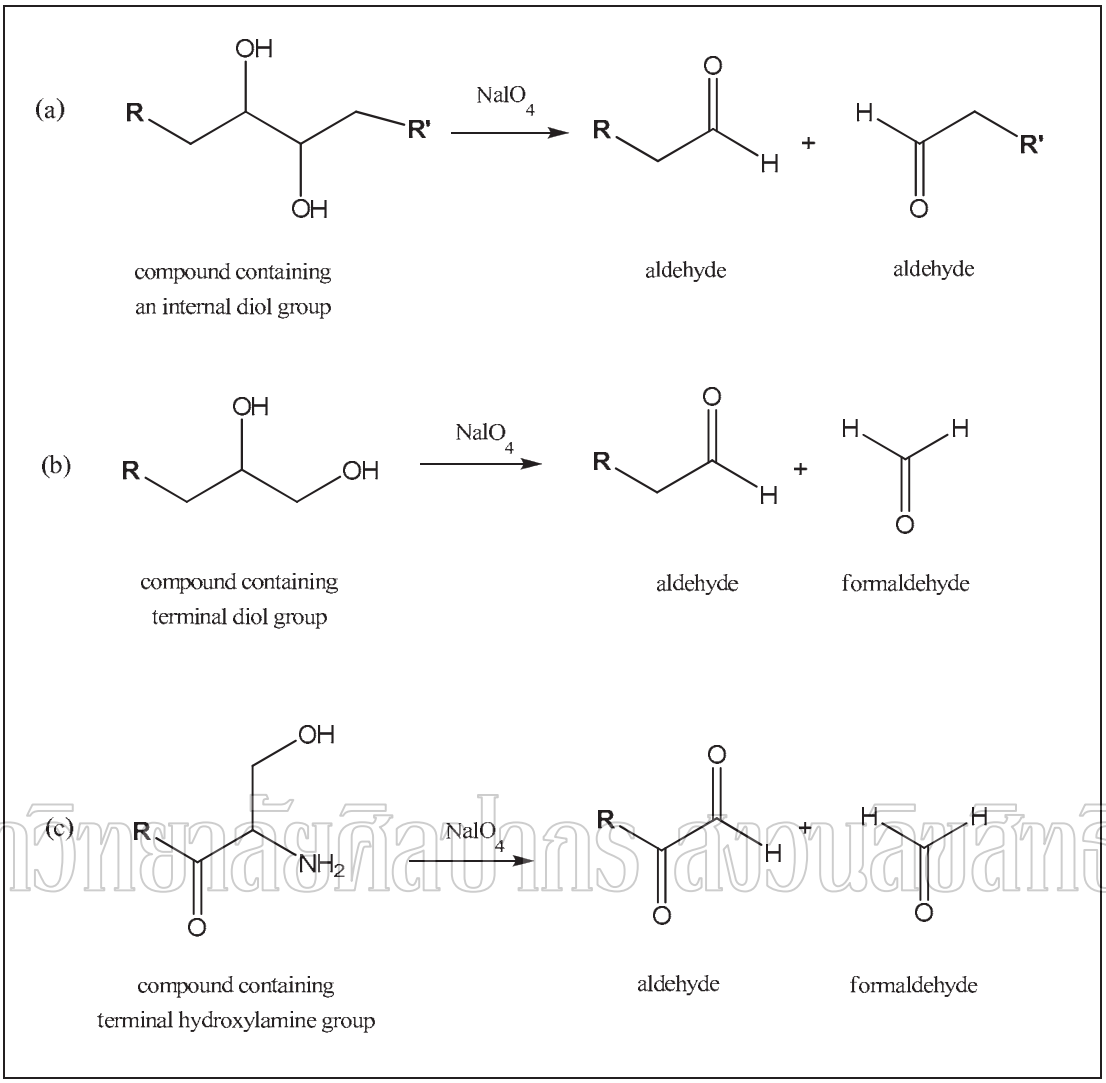
3.2.3 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล (carbonyldiimidazole)

สารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซลประกอบด้วยหมู่เอซิลอิมิดาโซลที่สามารถหลุดออกได้ถึงสองหมู่ เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลเกิดเป็นสารมัธยันตร์อิมิดาโซลคาร์บาเมต และในกรณีเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับสารประกอบเอมีนจะปลดปล่อยอิมิดาโซลออกมาจะได้ผลิตภัณฑ์ยูรีเทนรูปแบบที่มีเสถียรภาพสูง (ภาพที่ 11)



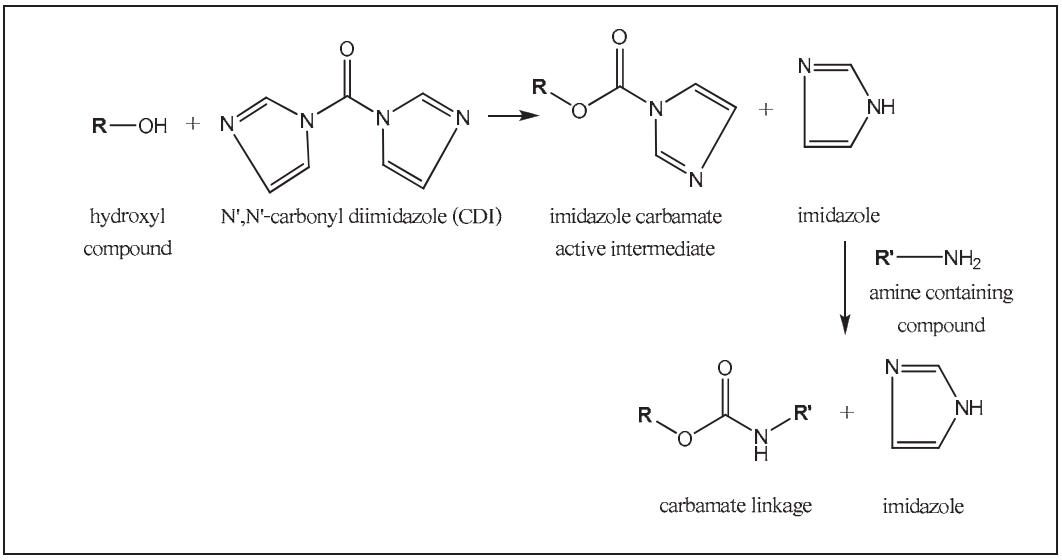
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 9 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มอัลคิลและกลุ่มเอซิล



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 10 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยการออกซิเดชันของสารกลุ่มเพอริโอเดต (a) ปฏิกิริยาของโมเลกุลที่มีคาร์บอนซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลติดกัน 2 คาร์บอน (b) ปฏิกิริยาของโมเลกุลที่มีปลายด้านใดด้านหนึ่งเป็นหมู่ไดออลและ (c) ปฏิกิริยาของโมเลกุลที่มีอนุพันธ์ไฮดรอกซิลเอมีน



ภาพที่ 11 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล

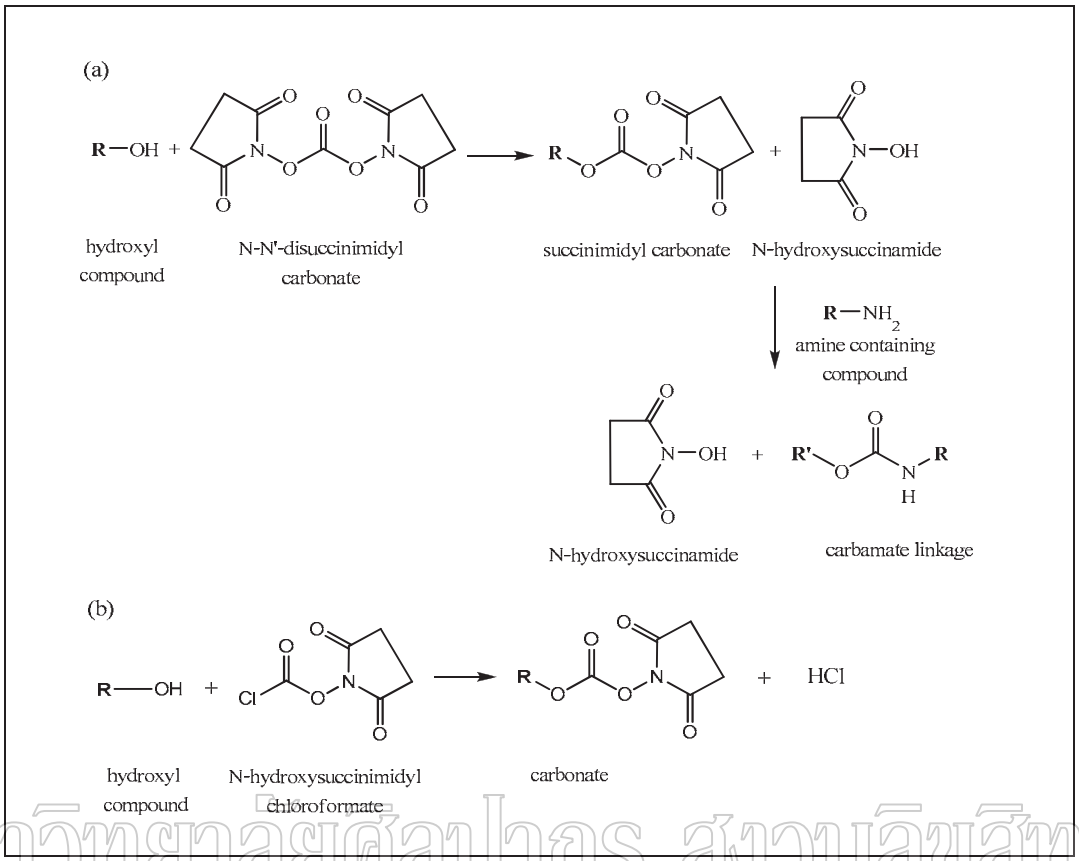
3.2.4 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไดซักซินิลคาร์บอเนตหรือไฮดรอกซีซักซินิมิดริลคลอโรฟอร์เมต (disuccinyl carbonate/hydroxysuccinimidyl chloroformate)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารกลุ่มไดซักซินิลคาร์บอเนตหรือไฮดรอกซีซักซินิมิดิลคลอโรฟอร์เมต เช่น ไดซักซินิมิดิลคาร์โบเนต (disuccimidyl carbonate) สารจะถูกไฮโดรไลซ์ได้ง่าย แต่เมื่ออยู่ในสภาวะสารละลายตัวกลางที่ไม่มีน้ำเป็นส่วนประกอบจะทำปฏิกิริยาที่หมู่ไฮดรอกซิลเกิดซักซิมิดิลคาร์บอเนตสามารถทำปฏิกิริยาการเข้าคู่กับสารประกอบเอมีนเกิดสารผลิตภัณฑ์เชื่อมขวางเช่นเดียวกับสารเอ็นไฮดรอกซิซักซิมิดิลคลอโรฟอร์เมต (ภาพที่ 12)

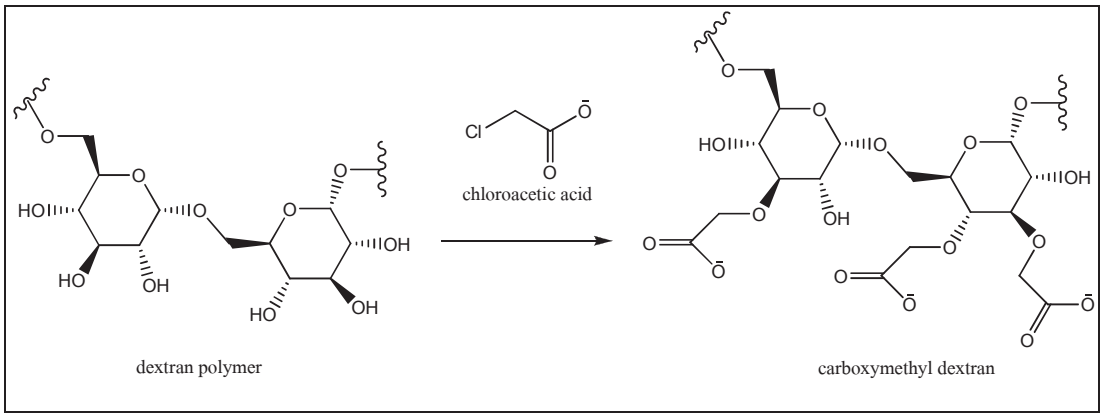
3.2.5 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มอัลคิลฮาโลเจน (alkyl halogens)

การทำปฏิกิริยากับสารประกอบอัลคิลฮาโลเจนมักใช้ในการดัดแปรหมู่ไฮดรอกซิลจำเพาะในคาร์โบไฮเดรต พอลิเมอร์หรือโมเลกุลอื่นๆ สารอนุพันธ์คลอรีนหรือโบรมีนของอัลคิลสายสั้นที่มีหมู่ฟังก์ชันอื่นโดยส่วนใหญ่มักเป็นหมู่คาร์บอกซิเลตซึ่งสามารถใช้เป็นแขนเชื่อมต่อกับโมเลกุลอื่นๆ ดังตัวอย่างที่แสดงในภาพที่ 13 ซึ่งเป็นการดัดแปรเดกซ์แทรนโดยใช้กรดคลอโรอะซิติก การดัดแปรเกิดที่หมู่ไฮดรอกซิลได้ผลิตภัณฑ์คาร์บอกซีเมทิลเดกซ์แทรน



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 12 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิล (a) กลุ่มไดซักซินิลคาร์บอเนตและ (b) ไฮดรอกซักซินิมิดิลคลอโรฟอร์เมต



ภาพที่ 13 ตัวอย่างการดัดแปรที่หมู่ไฮดรอกซิลของเดกซ์แทรนโดยใช้สารกลุ่มอัลคิลฮาโลเจน

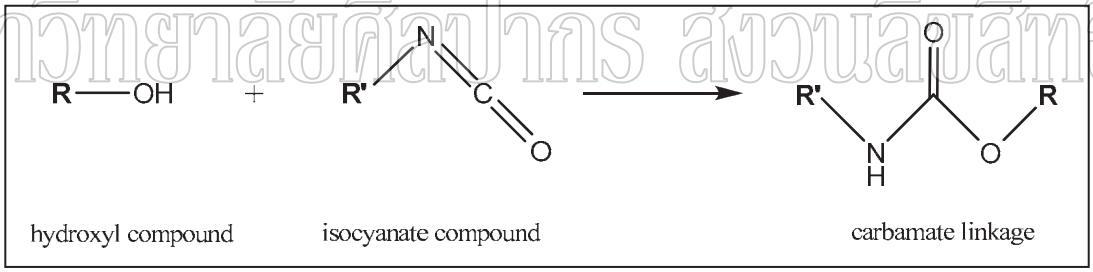
3.2.6 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไอโซไซยาเนต (isocyanates)

ปฏิกิริยานี้สารกลุ่มไอโซไซยาเนตสามารถทำปฏิกิริยาที่หมู่ไฮดรอกซิลเกิดเป็นการเชื่อมต่อแบบยูรีเทนหรือคาร์บาเมต ปฏิกิริยาสามารถเกิดได้ดีแต่สารไอโซไซยาเนตมีเสถียรภาพต่ำ สารถูกทำลายได้โดยง่ายด้วยความชื้น อย่างไรก็ตามรีเอเจนต์ที่มีไอโซไซยาเนตเป็นส่วนประกอบสามารถนำมาใช้ในปฏิกิริยาการเชื่อมขวางหรือติดฉลากสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (ภาพที่ 14)

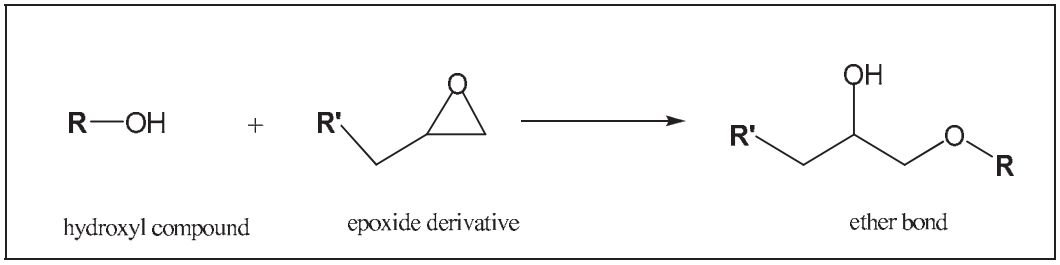
3.2.7 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยอีพอกไซด์ (epoxides) และออกซิเรน (oxiranes)

สารกลุ่มอีพอกไซด์และออกซิเรนสามารถทำปฏิกิริยาโดยอาศัยความเป็นนิวคลีโอไฟล์เมื่อสารเปิดวงออก ปฏิกิริยานี้สามารถเกิดได้ทั้งในเอมีนปฐมภูมิ ซัลไฟล์ดริล หรือหมู่ไฮดรอกซิลผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ เอมีนทุติยภูมิ ไทโออีเทอร์และพันธะอีเทอร์ตามลำดับ แสดงปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลกับสารกลุ่มอีพอกไซด์ดังภาพที่ 15

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 14 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไอโซไซยาเนต

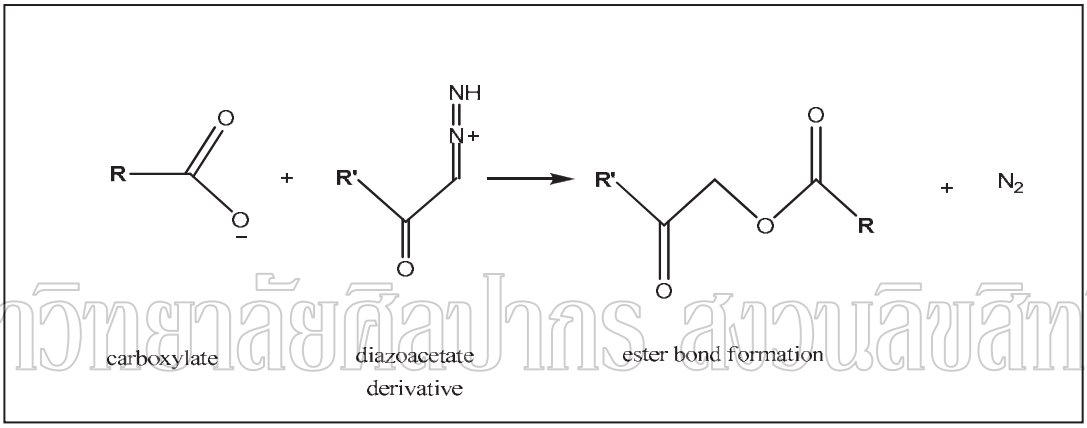


ภาพที่ 15 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยอีพอกไซด์และออกซิเรน

3.3 ปฏิกิริยาที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิล (R-COOH)

3.3.1 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลโดยสารกลุ่มไดอะโซอัลเคนและไดอะโซเอซิล (diazoalkanes and diazoacyl compound)

สารประกอบไดอะโซอัลเคนและไดอะโซเอซิลสามารถเกิดปฏิกิริยาที่หมู่คาร์บอกซิเลตได้เองโดยไม่ต้องอาศัยตัวเร่งหรือสารอื่นๆ เพื่อช่วยให้เกิดปฏิกิริยาไดอะโซอัลคิลที่ถูกโปรโตเนตจะเข้าทำปฏิกิริยากับประจุลบของคาร์บอกซิเลตเกิดพันธะโควาเลนท์และปลดปล่อยก๊าซไนโตรเจน สภาวะที่เหมาะสมคือสภาวะค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5 (ภาพที่ 16) และในกรณีที่ทำปฏิกิริยาในสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบมักจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส



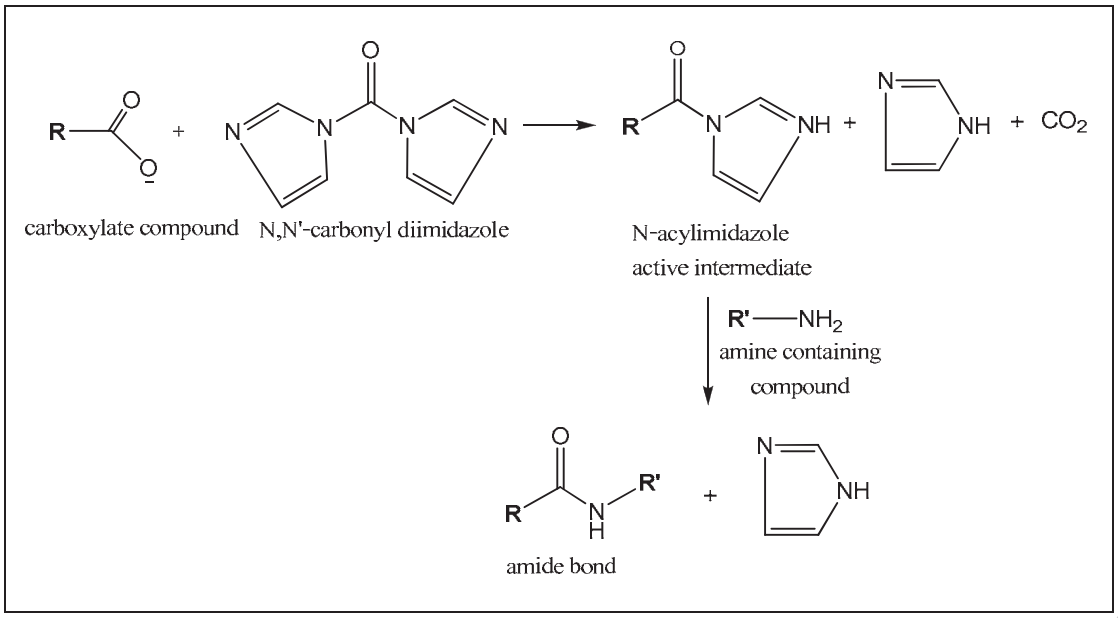
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 16 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มไดอะโซอัลเคนและไดอะโซอะซิติล

3.3.2 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล (carbonyldiimidazole)

สารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลในสภาวะสารละลายตัวกลางที่ไม่มีน้ำเป็นส่วนประกอบเกิดสารมัธยันตร์เอซิลอิมิดาโซลซึ่งมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาต่อเป็นสารอิมิดาโซลและปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่ถ้าทำปฏิกิริยาต่อกับสารประกอบเอมีนจะเกิดพันธะเอไมด์ ในขณะที่ถ้าทำปฏิกิริยาต่อกับสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลจะเกิดสารประกอบที่มีพันธะเอสเทอร์ สารคาร์บอนิลไดอิมิดาโซลสามารถทำหน้าที่เสมือนสารเชื่อมขวางที่ไม่เพิ่มความยาวให้แก่โมเลกุลของสารผลิตภัณฑ์ เพราะสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับนิวคลีโอไฟล์โมเลกุลอื่นและปลดปล่อยอิมิดาโซลออกมา ซึ่งการเลือกทำปฏิกิริยาในสภาวะตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำขึ้นกับความสามารถในการละลายของนิวคลีโอไฟล์ สำหรับในสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบการเข้าคู่ระหว่างเอซิลอิมิดาโซลกับสารประกอบเอมีน

สภาวะที่เหมาะสมคือ สภาวะที่มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7-9 และสารละลายตัวกลางที่นำมาใช้ต้องไม่มีเอมีน (หลีกเลี่ยงการใช้ทริสบัฟเฟอร์ (Tris buffer) หรืออิมิดาโซล) (ภาพที่ 17)

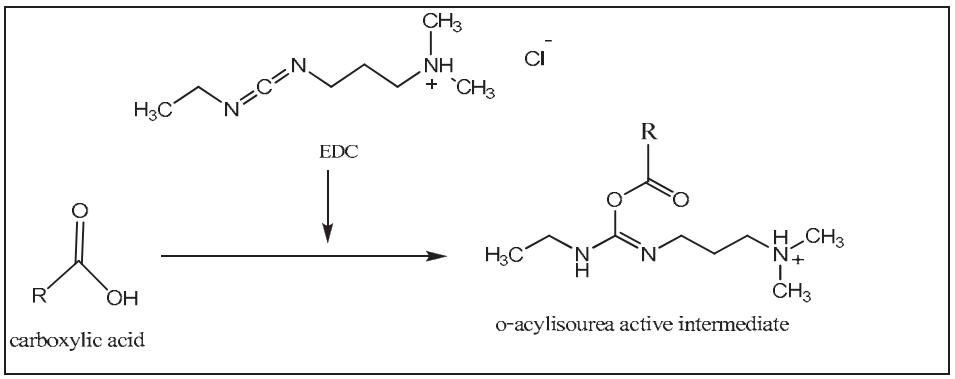


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 17 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งไฮดรอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์บอนิลไดอิมิดาโซล

3.3.3 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลโดยสารกลุ่มคาร์โบไดอิไมด์ (carbodiimide)

ปฏิกิริยานี้จะเกิดที่หมู่คาร์บอกซิลิกเพื่อเตรียมการเชื่อมต่อกับโมเลกุลอื่น การดัดแปรที่ตำแหน่งนี้เตรียมโดยเกิดผ่านสารมัธยันตร์ที่มีความว่องไวสูงและให้ผลิตภัณฑ์อะซิเลต (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลเกิดสารมัธยันตร์เอซิลไอโซยูเรีย

ปฏิกิริยาขั้นตอนแรกกระตุ้นที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกให้กลายเป็นคาร์บอกซิเลตและการกระตุ้นนี้อาศัยสารกลุ่มออกซิไดซิงช่วยเพิ่มความว่องไวในการทำปฏิกิริยาและเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าจับกับหมู่ฟังก์ชันเป้าหมายด้วยพันธะโควาเลนท์ ชนิดของสารกลุ่มออกซิไดซิงแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดของสารกลุ่มออกซิไดซิงที่นิยมใช้ในงานการสังเคราะห์และเชื่อมขวางโมเลกุล

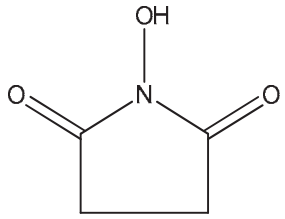
สารช่วยกระตุ้นหมู่คาร์บอกซิเลต	หมู่ฟังก์ชันที่สามารถนำมาเชื่อมต่อได้	สารผลิตภัณฑ์
N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC)	R-OH	ester
Carbonyldiimidazole (CDI)	R-SH	thioester
N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) ร่วมกับ sulfo-N-hydroxy succinimide; sulfo-NHS)	$R\text{-}NH_2$	amide
	$R\text{-}NH\text{-}NH_2$	hydrazide

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3.3.4 สารเพิ่มประสิทธิภาพปฏิกิริยาเชื่อมขวางที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิก

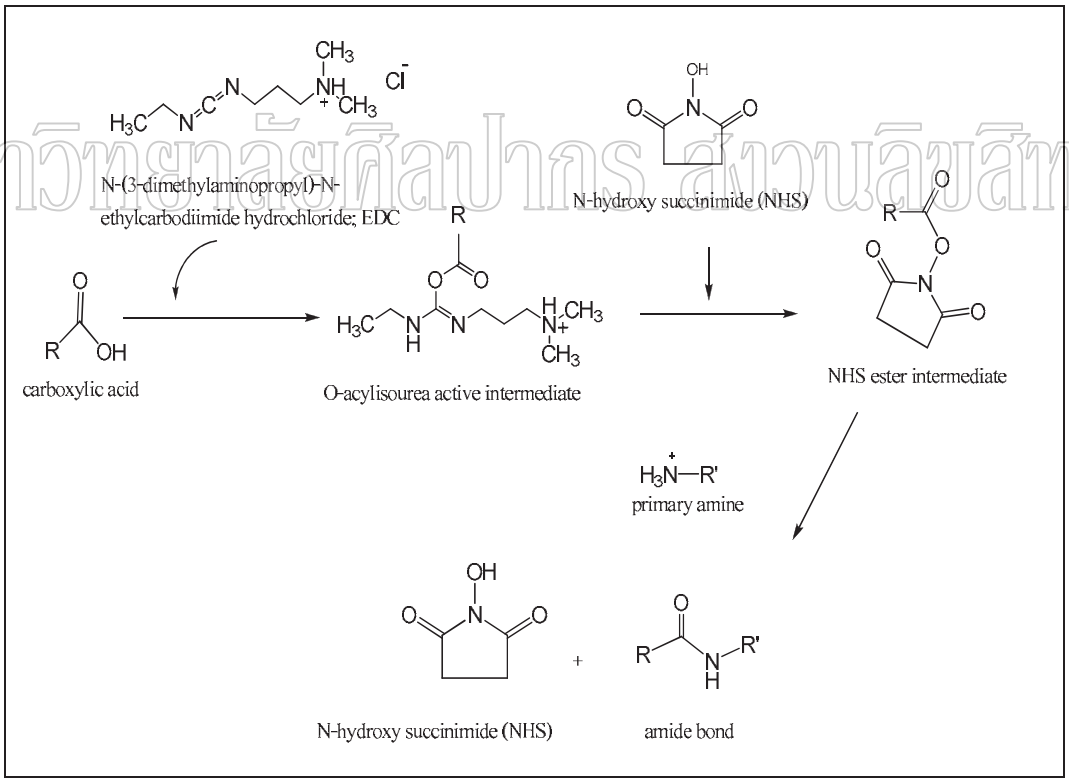
สารมัธยันตร์ที่เกิดในระหว่างขั้นตอนการเชื่อมขวางที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกด้วยเอ็น-3-ไดเมทิลอะมิโนโพรพิลเอ็นเอทิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์ (N-(3-dimethylaminopropyl)-N′-ethylcarbodiimide hydrochloride หรือ EDC) มักจะพบปัญหามีเสถียรภาพต่ำ ครึ่งชีวิตสั้นหรือโดนไฮโดรไลซ์ได้ง่าย จึงมีการใช้สารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเชื่อมขวางมาช่วยแก้ปัญหา การเชื่อมขวางโดยทั่วไปนิยมใช้เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (N-hydroxysuccinimide หรือNHS) และซัลโฟเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (sulfo-N-hydroxy succinimide หรือ sulfo-NHS) ความแตกต่างของสารสองชนิดนี้คือ NHS ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีในขณะที่ sulfo-NHS สามารถละลายในน้ำได้ดี การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้มักพบได้บ่อยในการใช้ร่วมกับ EDC ในการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของ EDC เมื่อ EDC ทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิล เกิดสารมัธยันตร์เอซิลไอโซยูเรีย ซึ่งมีเสถียรภาพต่ำจากนั้นเติม NHS เพื่อเข้าแทนที่ EDC เกิดเป็นสารมัธยันตร์เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์เอสเทอร์ (N-hydroxysuccinimide ester) สารมัธยันตร์นี้มี

เสถียรภาพสูงกว่าโอเอซิลไอโซยูเรียมาก ทำให้ประสิทธิภาพการเข้าจับกับเอมีนปฐมภูมิดีขึ้นและส่งผลให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยาสูงขึ้น (Hermanson 2008 : 139) ภาพที่ 19 แสดงโครงสร้างเคมีของ NHS และภาพที่ 20 แสดงปฏิกิริยาการเชื่อมขวางโดยมี NHS ช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสารมัธยันตร์



N-hydroxysuccinimide (NHS)

ภาพที่ 19 โครงสร้างเคมีของเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (N-hydroxysuccinimide หรือ NHS)



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 20 ปฏิกิริยาการเชื่อมขวางผ่านพันธะเอไมด์โดยใช้เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ

4. เคมีของการเชื่อมขวาง

การเชื่อมขวางเป็นขั้นตอนการเชื่อมต่อทางเคมีระหว่างสองโมเลกุลหรือมากกว่าผ่านพันธะโควาเลนท์ โดยมีสารเชื่อมขวาง (cross-linking agent, cross-linker) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยส่วนปลาย 2 ด้านหรือมากกว่าที่มีความว่องไวกับปฏิกิริยาเคมี เพื่อสามารถติดหมู่ฟังก์ชันชนิดจำเพาะเจาะจง เช่น หมู่เอมีนปฐมภูมิ หมู่ซัลไฟล์ดริล ลงไปบนโมเลกุลเป้าหมาย ส่วนสำคัญสำหรับปฏิกิริยาที่ควรคำนึงถึงและสภาวะที่ใช้สำหรับการดัดแปรเชื่อมหมู่ฟังก์ชันเป้าหมายได้แก่

การเลือกสารเชื่อมขวาง การเลือกสารเชื่อมขวางจะเลือกโดยอาศัยการเปรียบเทียบความว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมี ความจำเพาะเจาะจงต่อหมู่ฟังก์ชันและสมบัติทางเคมีที่อาจจะส่งผลต่อการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้งานในขั้นต่อไป

ความจำเพาะเจาะจงทางเคมี หมู่ฟังก์ชันใดๆ ที่จะทำให้ด้านปลายทำปฏิกิริยากับหมู่ใดๆ อย่างจำเพาะเจาะจงโดยพิจารณาเบื้องต้นว่าสารมีหมู่ด้านปลายใด ทำปฏิกิริยาอย่างไร ต้องใช้สารใดช่วยกระตุ้นหรือไม่ สารที่ต้องการนำมาเชื่อมขวางมีด้านปลายเหมือนหรือต่างกันอย่างไร

ความยาวของช่วงระหว่างโมเลกุลเชื่อมขวาง ระยะทางที่สารเชื่อมขวางทำหน้าที่เป็นแขนยื่นออกมาเพื่อสร้างให้เกิดระยะห่างระหว่างสองโมเลกุลเพื่อลดอุปสรรคด้านความแตกต่างของหมู่ฟังก์ชันระหว่างสองโมเลกุลและความง่ายในการเชื่อมขวางโมเลกุลที่มีโครงสร้างยื่นยาว ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงความยากง่ายในการแยกสารเชื่อมขวางออกจากโมเลกุลของผลิตภัณฑ์ภายหลังการเชื่อมต่อ อาจมีพันธะแบบที่สามารถย้อนกลับได้ หลุดออกไปโดยไม่เพิ่มความยาวให้สารผลิตภัณฑ์หรือต้องทำให้พันธะแตกออกเพื่อแยกสารเชื่อมขวาง

ความสามารถในการละลายน้ำและการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ในกรณีที่ต้องการให้สารที่ทำการเชื่อมขวางสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ ต้องคำนึงถึงส่วนประกอบของสารเชื่อมขวางและกลุ่มของสารที่สามารถใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ช่วยเพิ่มการละลายหรือเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

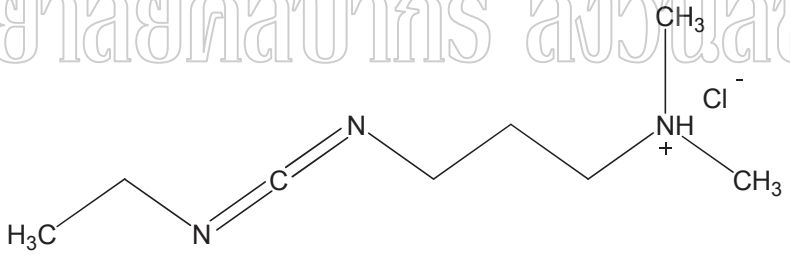
ปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นเองหรืออาศัยการเหนี่ยวนำร่วมโดยพิจารณาว่าสารเชื่อมขวางชนิดที่เลือกมาใช้สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เองหรือจะสามารถทำปฏิกิริยาได้เมื่อมีสิ่งเร้ามากระตุ้นในเวลาที่เหมาะสม เช่น แสงหรืออุณหภูมิ

สารเชื่อมขวางที่นิยมใช้ในการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ ได้แก่ สารกลุ่มคาร์โบไดอิไมด์ (carbodiimide) เช่น EDC ไซโคลเฮกซิลมอร์ฟอไลโนเอทิล (1-cyclohexyl-3-(2 morpholinoethyl) carbodiimide) ไดไซโคลเฮกซิลคาร์โบไดอิไมด์ (diclohexyl carbodiimide) และไดไอโซโพรพิลคาร์โบไดอิไมด์ (diisopropyl carbo diimide) ซึ่งจัดเป็นสารเชื่อมขวางที่ทำงานได้ดีในสถานการณ์ที่

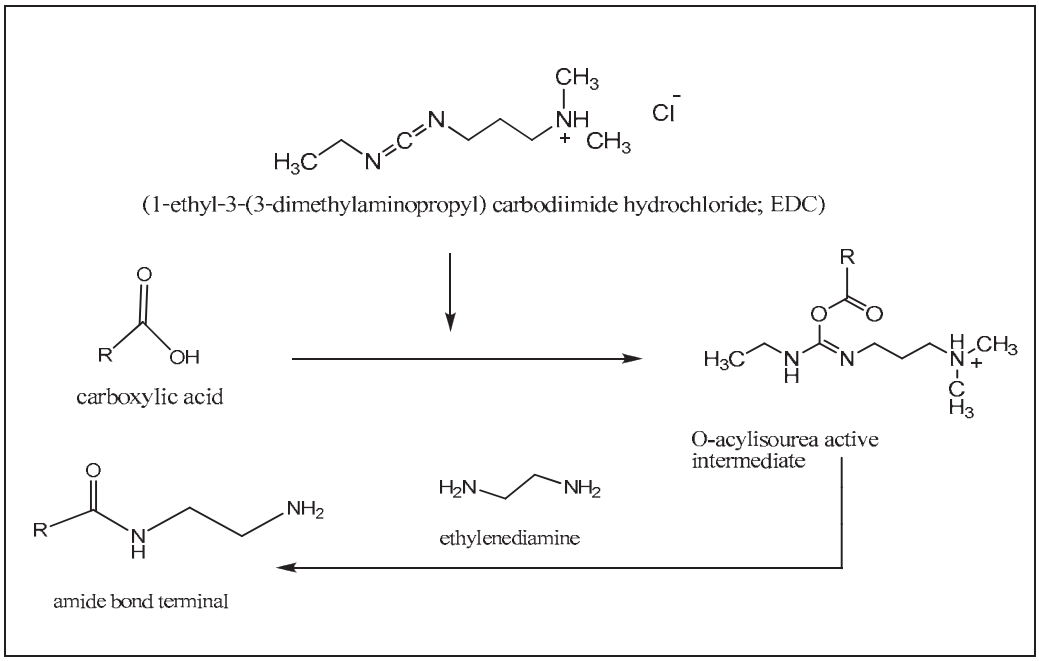
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ต้องการเชื่อมขวางหมู่คาร์บอกซิลโดยตรงกับเอมีนปฐมภูมิ ข้อแตกต่างของสารกลุ่มนี้กับสารเชื่อมขวางชนิดอื่นๆ คือสารกลุ่มไดอิไมด์เป็นสารเชื่อมขวางในกลุ่มที่มีความยาวเป็นศูนย์ (zero-length) ซึ่งสารนี้จะไม่เป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุลสารผลิตภัณฑ์หลังจากเชื่อมสองโมเลกุลเข้าด้วยกัน EDC จะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่กรดคาร์บอกซิลิกเกิดเป็นสารมัธยันตร์โอเอซิลไอโซยูเรีย (O-acylisourea) ซึ่งสามารถเกิดการแทนที่ได้ง่ายโดยนิวคลีโอไฟล์ ซึ่งมาจากหมู่เอมีนปฐมภูมิ ซึ่งเอมีนปฐมภูมินี้สามารถเกิดพันธะเอไมด์กับหมู่คาร์บอกซิลได้และสารพลอยได้จากปฏิกิริยานี้คืออนุพันธ์ของยูเรีย ซึ่ง สามารถละลายน้ำได้ สารมัธยันตร์โอเอซิลไอโซยูเรียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้ไม่มีเสถียรภาพในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ปฏิกิริยาอาจล้มเหลวถ้าสารมัธยันตร์ถูกย่อยสลายโดยน้ำ (hydrolysis) กลับเป็นคาร์บอกซิลิกอีกครั้งและจะถูกปล่อยออกมาในรูปเอ็นซับทิทิวยูเรีย (N-substituted urea) EDC สามารถทำงานได้ดีในสภาวะกรด (ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 4.5) ปราศจากการรบกวนโดยคาร์บอกซิลและเอมีนจากแหล่งอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา ภาพที่ 21 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ EDC และภาพที่ 22 แสดงปฏิกิริยาของ EDC ในการเชื่อมขวางเปลี่ยนปลายคาร์บอกซิลิกไปเป็นปลายเอมีน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 21 โครงสร้างทางเคมีของเอทิลไดเมทิลอะมิโนโพรพิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์



ภาพที่ 22 ปฏิกิริยาของ EDC ในการเชื่อมขวางเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้านปลายจากหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นเอมีนโดยใช้สารเอทิลีนไดเอมีน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปรพอลิเมอร์จากธรรมชาติ

งานวิจัยโดยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการรักษาสมบัติที่ดีของพอลิเมอร์ดั้งเดิมจากธรรมชาติไว้และพัฒนาเพิ่มเติมในส่วนที่จะช่วยให้การนำพอลิเมอร์ไปใช้ในงานได้อย่างหลากหลายภายใต้เงื่อนไข ราคาถูก สามารถทำซ้ำได้ และที่สำคัญคือปลอดภัยต่อผู้ใช้โดยไม่ทิ้งสารตกค้างหรือเป็นพิษต่อเซลล์ รูปแบบที่น่าสนใจคือแอมฟีฟิลิกพอลิเมอร์ พอลิเมอร์รูปแบบนี้สามารถจัดตัวเกิดเป็นลักษณะไมเซลล์หรือรูปร่างคล้ายไมเซลล์ที่สามารถรวมตัวหรือประกอบตัวเองได้ โดยใช้ทั้งแรงจากภายในและแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ถูกดัดแปรให้มีส่วนที่ชอบน้ำและชอบไขมันอยู่บนโมเลกุลเดียวกัน สมบัติที่พบเบื้องต้นคือลดพลังงานอิสระระหว่างพื้นผิว พอลิเมอร์ที่ผ่านการดัดแปรสามารถประกอบตัวเองโดยหันด้านที่ชอบไขมันเข้าภายใน เมื่ออยู่ในสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะเฉพาะอันประกอบขึ้นจากส่วนที่ชอบไขมันเป็นแกนด้านในและส่วนที่ชอบน้ำเป็นเปลือกอยู่ด้านนอก มีพอลิเมอร์จากธรรมชาติหลายชนิดที่มีการนำมาศึกษา เช่น เดกซ์แทรน ไกลคอล ไคโตแซน พอลลูแลน เคริ์ตแลนและเฮปพาริน ซึ่งพอลิเมอร์เหล่านี้ล้วนผ่านการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพและสามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพในร่างกาย โครงสร้างรูปแบบเฉพาะที่กล่าวมาข้างต้นได้ถูกนำมาศึกษาวิจัยและพัฒนาในแง่ของระบบที่มีประสิทธิภาพเพื่อการนำส่งยาที่มีปัญหาในการละลายน้ำ เช่น มีการ

นำกรดดีออกซีโคลิกเชื่อมขวางกับโมเลกุลเฮปพารินได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ซึ่งสามารถจัดเรียงตัวเองได้ภายใต้สภาวะสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบได้อนุภาคขนาดนาโนเมตร ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อบรรจุยาด็อกโซรูบิซิน (doxorubicin) เข้าไว้ภายในอนุภาคและเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับเซลล์มะเร็งพบว่าสามารถแสดงยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้และแสดงการคงอยู่ในกระแสโลหิตได้นาน มีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้ยาด็อกโซรูบิซินที่ไม่บรรจุลงในอนุภาค (Kim et al. 2007 : 4-10)

6. การดัดแปรเพิ่มสมบัติไม่ชอบน้ำสำหรับพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้

ในการดัดแปรพอลิเมอร์นั้นนักวิจัยมุ่งหวังปรับปรุงสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ปรับสมบัติการละลาย เพิ่มเสถียรภาพ เพิ่มความสามารถในการจัดตัวและควบคุมขนาดอนุภาค เป็นต้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถนำไปใช้งานได้ง่าย ประยุกต์ใช้ได้หลากหลายและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค โดยการดัดแปรพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ส่วนใหญ่เพื่อปรับสมบัติการละลาย โดยการเพิ่มโมเลกุลส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic moieties) เข้าไปในโมเลกุล ซึ่งสารที่จะมาเชื่อมขวางคัดเลือกจากโมเลกุลซึ่งมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพและผ่านการทดสอบแล้วว่ามีความปลอดภัยในระดับที่สามารถใช้เป็นวัสดุการแพทย์ได้ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท (Liu 2008:1650-1662) คือ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1. โมเลกุลแบบโซ่ตรง (linear hydrophobic molecule) เช่น ออกทานอล (octanol) และพอลิคาโพรแลกโทน (polycaprolactone)

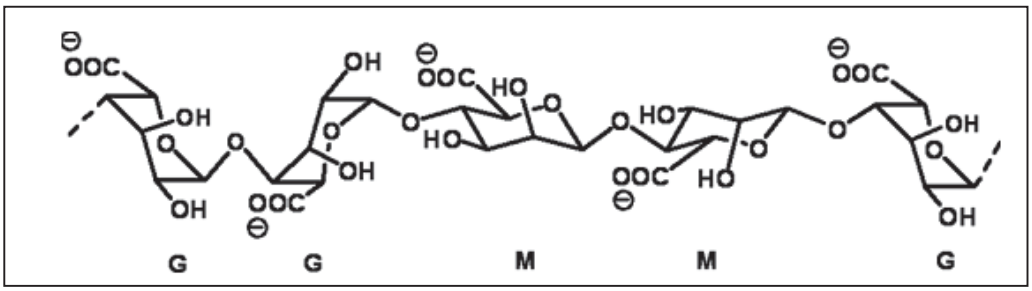
2. โมเลกุลแบบต่อกันเป็นวง (cyclic hydrophobic molecule) เช่น คอเรสเตอรอล (cholesterol) และกรดน้ำดี (bile acid)

3. โมเลกุลกลุ่มพอลิอะคริเลต (polyacrylate family) เช่น poly(methyl methacrylate)

การดัดแปรพอลิเมอร์จากธรรมชาติ เช่น อัลจิเนต ไคโตแซน เดกซ์แทรน เพกติน เป็นต้นโดยใช้ปฏิกิริยาการสังเคราะห์เพื่อดัดแปรโครงสร้างแตกต่างกัน

6.1 ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของอัลจิเนต

อัลจิเนตเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ในการผลิตอัลจิเนตระดับอุตสาหกรรมใช้สาหร่ายทะเล *Macrocystis pyrifera* ซึ่งมีอัลจิเนตประมาณร้อยละ 14-19 ปริมาณที่พบจะขึ้นกับชนิดของสาหร่าย ฤดูกาล และแหล่งที่สาหร่ายเจริญเติบโต โครงสร้างของอัลจิเนตประกอบด้วยกรดดีแมนนูโรนิก (D-mannuronic acid; M) และกรดดีกูลูโรนิก (L-guluronic acid; G) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะอัลฟาและเบตา (1→4)

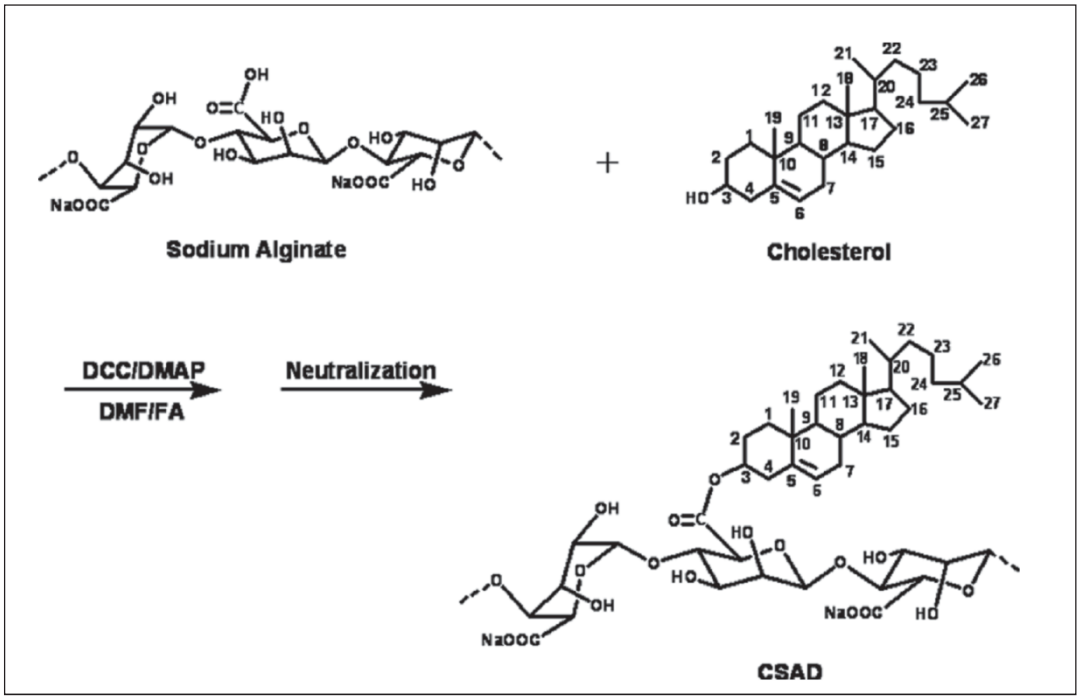


ภาพที่ 23 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต (M คือ กรดดีแมนนูโรนิกและ G คือ กรดดีกูลูโรนิก) ที่มา : L. Yang et al., “Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution,” Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218–225.

ตัวอย่างที่ 1

การดัดแปรโซเดียมอัลจิเนตด้วยการเชื่อมปลายหมู่คาร์บอกซิลของคอเลสเตอรอลเข้าที่หมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิกของอัลจิเนตผ่านพันธะเอสเทอร์โดยใช้ไดไซโคลเฮก ซิลคาร์โบไดอิไมด์ (N,N’-dicyclohexylcarbodiimide) เป็นสารช่วยเชื่อมขวางและเททระไดเมทิลอะมิโนไพริดีน (4-(N,N’-dimethylamino) pyridine) เป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยา สารผลิตภัณฑ์ที่ได้คืออนุพันธ์ของโซเดียมอัลจิเนตเชื่อมกับคอเลสเตอรอล (cholesteryl grafted sodium alginate derivative) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือหมู่คาร์บอกซิลของโซเดียมอัลจิเนตเชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลของคอเลสเตอรอลผ่านพันธะเอสเทอร์โดยมีไดไซโคลเฮกซิลคาร์โบไดอิไมด์ (dicyclohexyl carbodiimide) เป็นสารช่วยกระตุ้นและช่วยเชื่อมต่อ (ภาพที่ 24)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



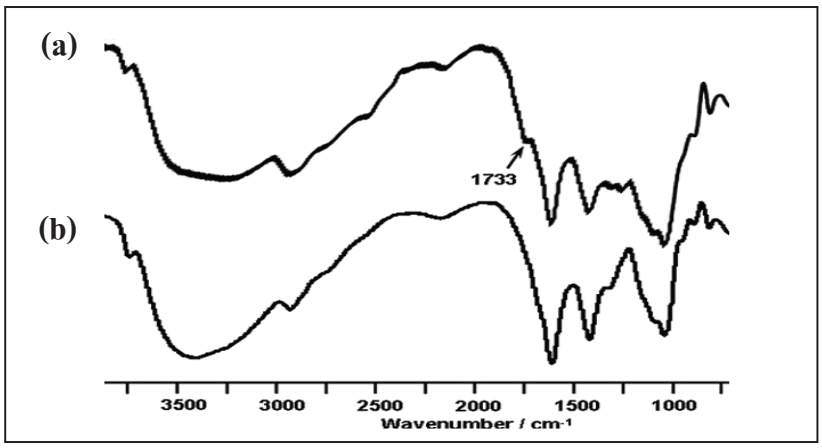
ภาพที่ 24 ขั้นตอนหลักในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของอัลจิเนตเชื่อมต่อกับคอเลสเตอรอล (cholesteryl grafted sodium alginate derivative; CSAD)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ที่มา : L. Yang et al., "Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution," Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของอัลจิเนตที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากการดัดแปรและอันตรกิริยาระหว่างอัลจิเนตและคอเลสเตอรอลด้วยวิธีสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มพบว่าหมู่คาร์บอกซิลบนสายพอลิเมอร์ของอัลจิเนตถูกเอสเทอริไฟล์ด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่ด้านปลายของคอเลสเตอรอล ซึ่งปรากฏพีกใหม่ที่ตำแหน่ง 1,733 cm^{-1} (ภาพที่ 25) แสดงถึงอันตรกิริยาระหว่างสองโมเลกุลเกิดผ่านพันธะเอสเทอร์และสเปกทรัมจากสเปกโทรสโกปีชนิดนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ปรากฏพีกกว้างที่ตำแหน่ง 1.0-2.5 ppm (ภาพที่ 26) แสดงถึงตำแหน่งของคอเลสเตอรอลที่ปรากฏขึ้นในโมเลกุลของอัลจิเนต

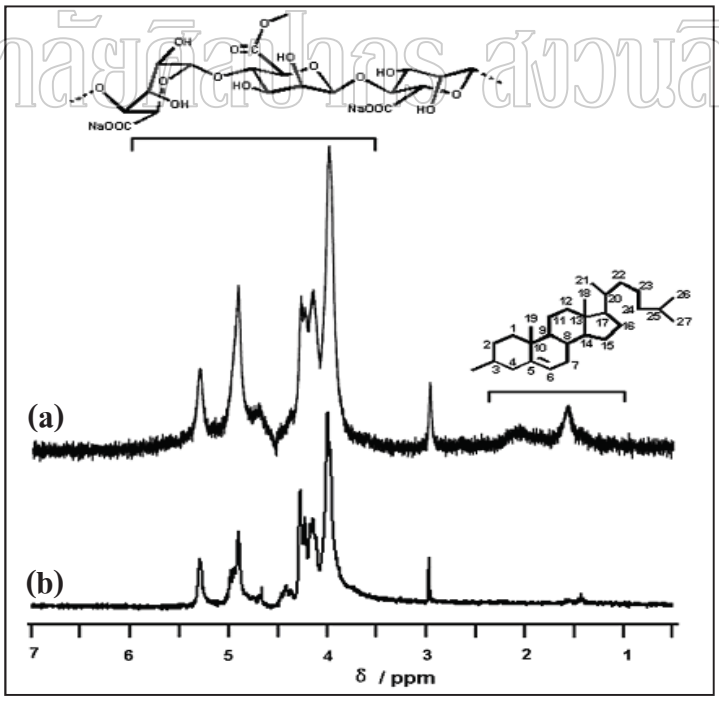
สมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปจากสารตั้งต้นอัลจิเนตที่มีสมบัติชอบน้ำเพียงอย่างเดียวหลังจากผ่านการดัดแปรพบว่าอัลจิเนตดัดแปรเป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติชอบทั้งน้ำและไขมันอยู่บนสายพอลิเมอร์เดียวกัน อนุภาคที่ได้มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร การกระจายขนาดอยู่ในช่วงแคบ ลักษณะอนุภาคกลม (ภาพที่ 27 และ 28) และสามารถบรรจุสารที่ไม่ชอบน้ำ (เช่น ไพรีน) ไว้ภายในได้



ภาพที่ 25 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของสารตั้งต้นอัลจิเนตและอัลจิเนตดัดแปร; (a) อัลจิเนตดัดแปรและ (b) สารตั้งต้นโซเดียมอัลจิเนต

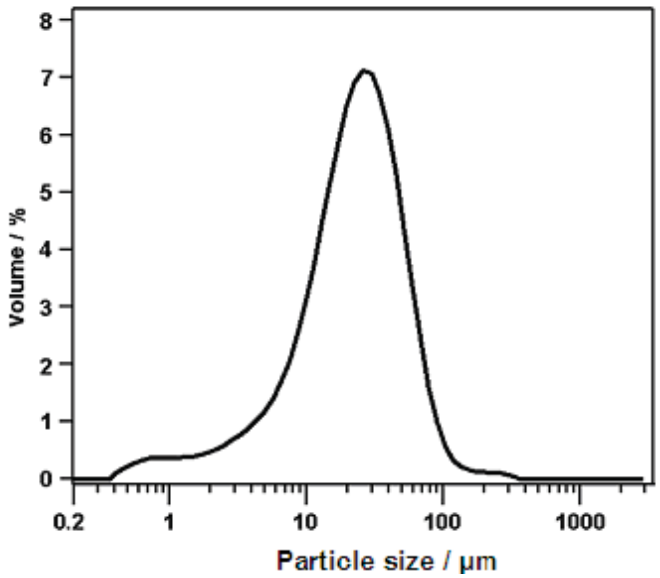
ที่มา : L. Yang et al., “Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution,” Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 26 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นอัลจิเนตและอัลจิเนตดัดแปรโดยใช้ D_2O เป็นตัวทำละลาย; (a) อัลจิเนตดัดแปรและ (b) สารตั้งต้นโซเดียมอัลจิเนต

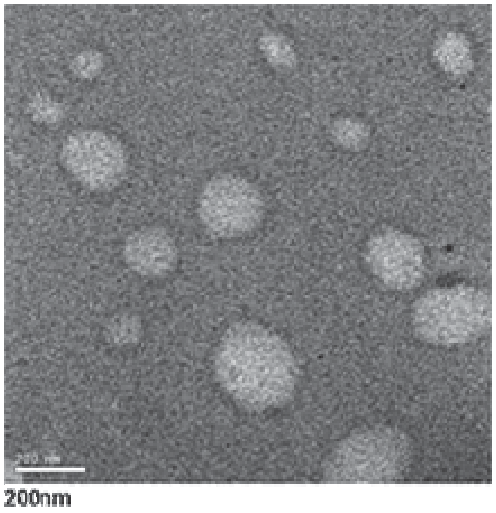
ที่มา : L. Yang et al., “Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution,” Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.



ภาพที่ 27 ขนาดและรูปแบบการกระจายขนาดของอนุภาคอัลจิเนตดัดแปร

ที่มา : L. Yang et al., “Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution,” Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

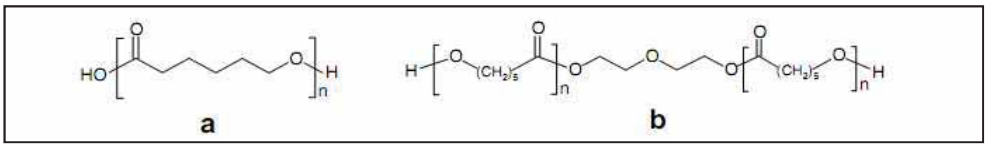


ภาพที่ 28 ภาพถ่ายของอัลจิเนตดัดแปรจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

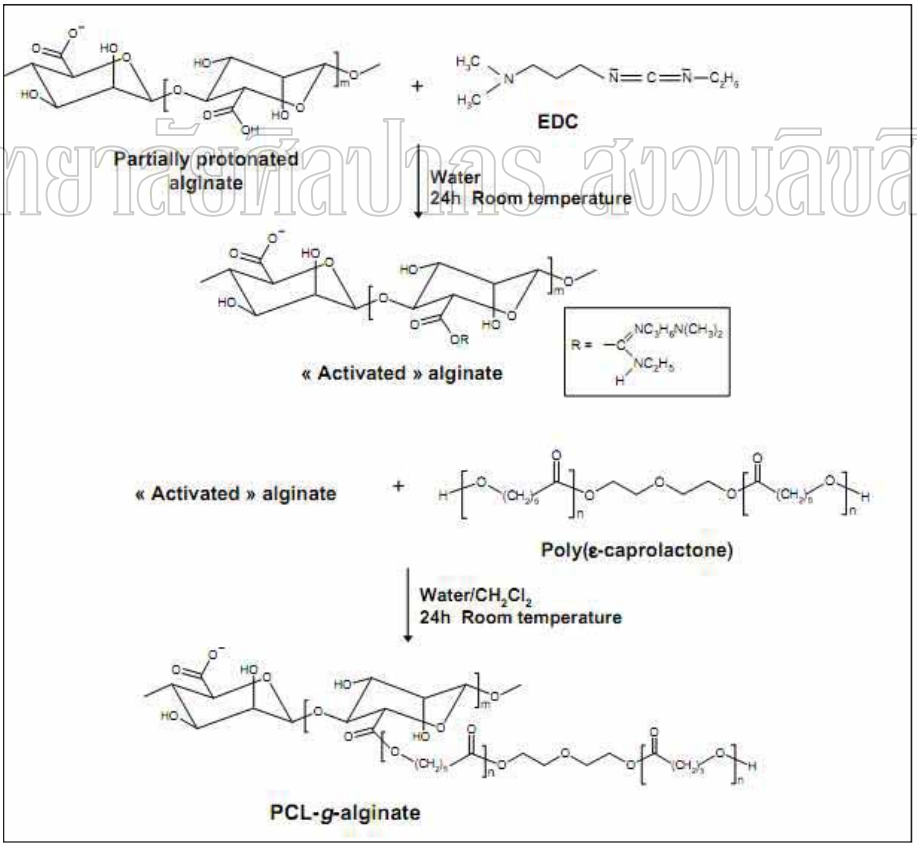
ที่มา : L. Yang et al., “Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution,” Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.

ตัวอย่างที่ 2

การดัดแปรอัลจิเนตที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกด้วยการเชื่อมขวางกับสารพอลิแอลคาร์โพรแลกโทนด้วยพันธะโควาเลนท์โดยใช้ EDC ช่วยในการเชื่อมขวาง (ภาพที่ 30) เพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาละลายน้ำยาก



ภาพที่ 29 โครงสร้างเคมีของ (a) พอลิคาร์โพรแลกโทนและ (b) พอลิคาร์โพรแลกโทนไดออล
ที่มา: I. Colinet et al., “New amphiphilic modified polysaccharides with original solution behaviour in salt media,” Carbohydrate Polymers 75 (2009) : 454-462.



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 30 ขั้นตอนปฏิกิริยาสังเคราะห์อัลจิเนตเชื่อมขวางกับพอลิคาร์โพรแลกโทน
ที่มา: I. Colinet et al., “New amphiphilic modified polysaccharides with original solution behaviour in salt media,” Carbohydrate Polymers 75 (2009) : 454-462.

6.2 ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของไคโตแซน

ไคติน (chitin) เป็นพอลิเมอร์สายยาวที่ประกอบด้วยน้ำตาลหน่วยย่อยคือ เอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีน (N-acetyl-D-glucosamine) มาเรียงต่อกันเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกหอย กุ้ง กระดองปู เปลือกของแมลง ผนังเซลล์ของสาหร่าย ยีสต์ และเห็ดรา และมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับเซลลูโลสมากโดยแตกต่างกันในส่วนของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 2 (C-2) ในโมเลกุลของไคตินซึ่งเป็นหมู่อะซิติลอะมิโน ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่งมีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกันโดยแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของพอลิเมอร์ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

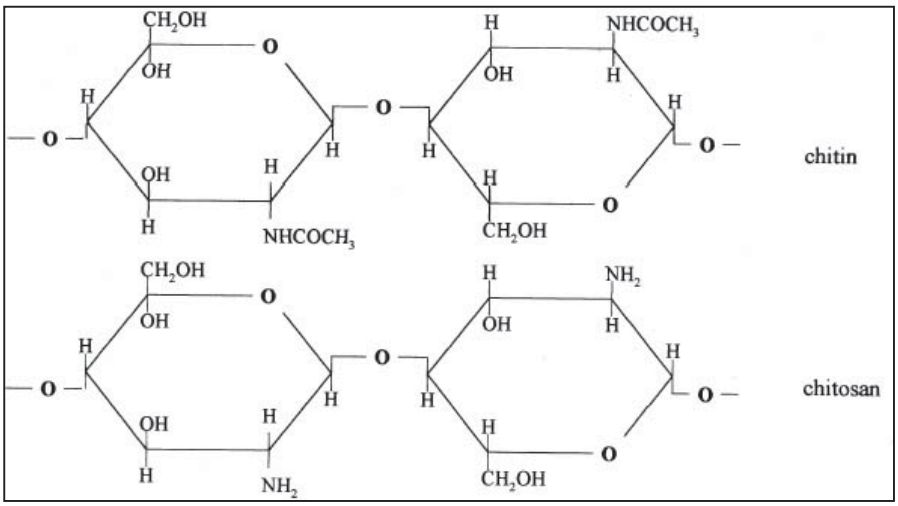
แบบอัลฟา มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู

แบบเบตา มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน จึงจับกันได้ไม่แข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนปลาหมึก

แบบแกมมา มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (สวนทางกันสลับกับทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ไคโตแซน (chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ตัดหมู่อะซิติลของน้ำตาลเอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีนออกโดยวิธีดีอะซิติลเลชัน (deacetylation) โดยเปลี่ยนน้ำตาลเอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีนเป็นกลูโคซามีนซึ่งมีเสถียรภาพต่ำ มีความเป็นขั้วสูง จึงทำให้ไคโตแซนมีสมบัติพิเศษพร้อมจะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว มีสมบัติละลายได้ในกรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2-3 ปกติแล้วไคโตแซนที่ได้จะมีส่วนผสมของน้ำตาลเอ็นอะซิติลดีกลูโคซามีนและกลูโคซามีนอยู่ในสายพอลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งระดับการกำจัดหมู่อะซิติลหรือร้อยละการเกิดดีอะซิติเลชันมีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตแซน นอกจากนี้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนมีผลต่อความหนืดเช่นกัน ไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเป็นพอลิเมอร์สายยาวและเมื่อเป็นสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ดังนั้นการนำไคโตแซนไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งร้อยละการเกิดดีอะซิติเลชันและน้ำหนักโมเลกุล ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของไคตินไคโตแซนแสดงดังภาพที่ 31



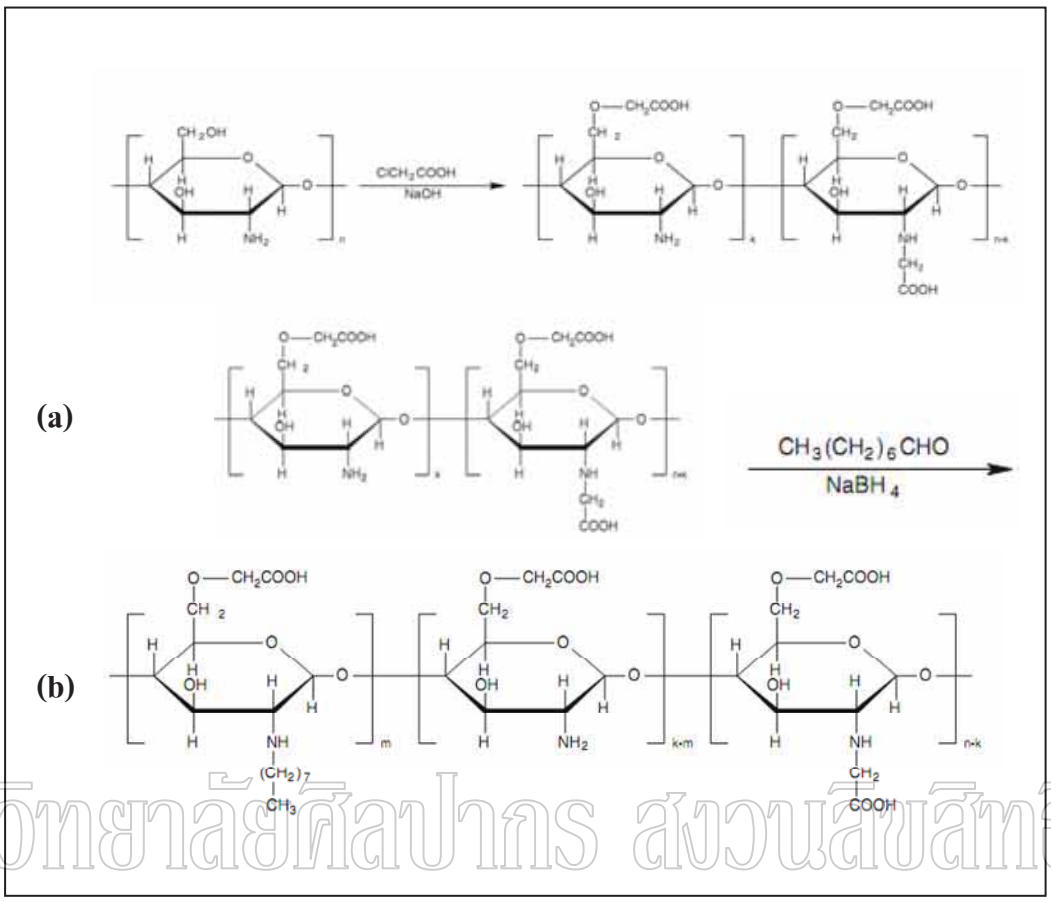
ภาพที่ 31 โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตแซน

ที่มา: P. Jimenez et al., “Antifungal protection and sizing of paper with chitosan salts and cellulose ethers. Part 1. Physical effects,” Journal of the American Institute for Conservation 41 (2002) : 243-254.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตัวอย่างที่ 1

การดัดแปรไคโตแซนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อแก้ปัญหาข้อจำกัดของไคโตแซนโมเลกุลใหญ่ ละลายน้ำได้ยากที่ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในระดับกลาง มีความหนืดที่สูงมากเมื่อละลายจะทำให้เป็นปัญหาในการนำไปใช้เป็นตัวพายาสำหรับระบบนำส่งยาที่บริหารยาทางหลอดเลือดดำ (intravenous administration) ลำดับและกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไคโตแซนและหมู่ออกติล (ภาพที่ 32) เริ่มจากการเติมกลุ่มคาร์บอกซีเมทิลเข้าไปในโมเลกุลไคโตแซนผ่านปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันโดยใช้กรดคลอโรอะซิติก เติมเข้าที่หมู่อะมิโนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 (C-2 ($-NH_2$)) และคาร์บอนตำดหน่งที่ 6 (C-6 (-OH)) เพื่อให้เกิดอนุพันธ์คาร์บอกซีเมทิลไคโตแซนที่สามารถละลายน้ำได้และการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ออกติลเชื่อมต่อกับคาร์บอกซีเมทิลไคโตแซนโดยปฏิกิริยาเกิดที่หมู่อะมิโนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เปลี่ยนจากเอมีนปฐมภูมิที่เหลือจากการปฏิกิริยาด้วยกรดคลอโรอะซิติกในขั้นตอนแรกให้เป็นเอมีนทุตยภูมิ โดยเชื่อมต่อโมเลกุลออกติลเข้ากับคาร์บอกซีเมทิลไคโตแซนโดยใช้สารช่วยกระตุ้นโซเดียมบอโรไฮไดร์ ($NaBH_4$) และเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งในการทำปฏิกิริยา เพื่อให้ปฏิกิริยาดำเนินไปอย่างสมบูรณ์และจำเพาะเจาะจงที่ตำแหน่งเอมีนเท่านั้น



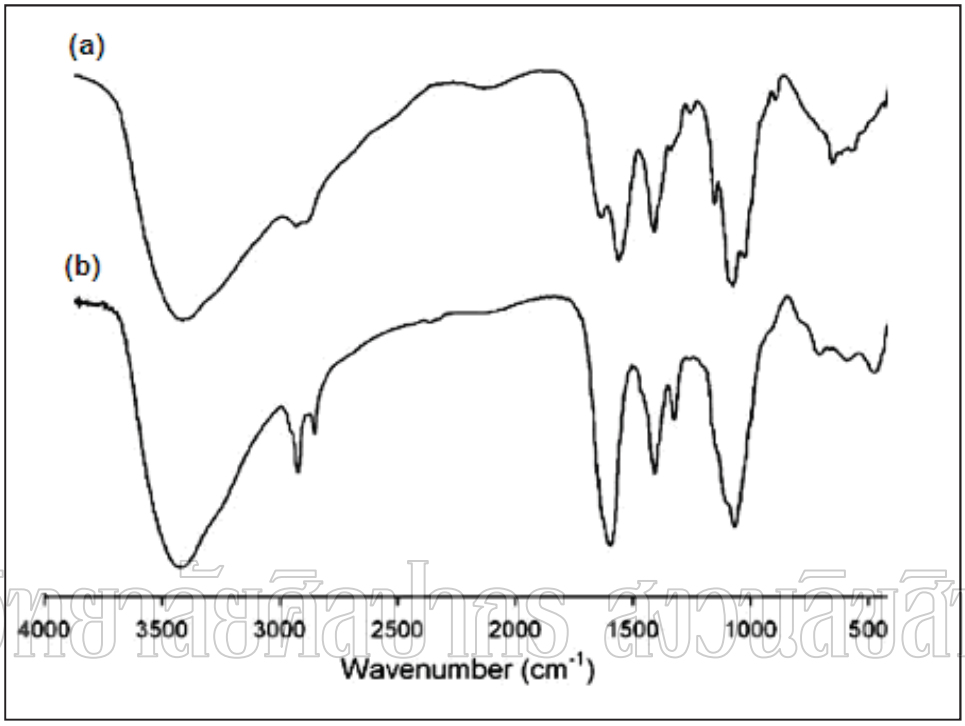
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 32 ปฏิกิริยาสังเคราะห์และสารอนุพันธ์ไคโตแซน; (a) อนุพันธ์ไคโตแซนที่สามารถละลายน้ำได้และ (b) สารผลิตภัณฑ์ออกติลเชื่อมต่อกับคาร์บอกซีเมทิลไคโตแซน

ที่มา: Y. Zhang et al., “Potential of amphiphilically modified low molecular weight chitosan as a novel carrier for hydrophobic anticancer drug: Synthesis, characterization, micellization and cytotoxicity evaluation,” Carbohydrate Polymers 77 (2009) : 231-238.

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลด้วยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มพบว่าเส้นสเปกทรัมของไคโตแซนดัดแปรกับสารตั้งต้นไคโตแซนพบพีกความเข้มสูงที่ตำแหน่ง 1,601 และ 1,409 cm^{-1} ซึ่งเป็นการสั่นยืดขยายแบบสมมาตรและอสมมาตรของโมเลกุลคาร์บอกซิเลต (COO-) และพบพีกความเข้มสูงมากที่ตำแหน่ง 1,074 cm^{-1} แสดงถึงพันธะอีเทอร์ในไคโตแซนดัดแปร หมู่คาร์บอกซีเมทิลเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 6 ส่งผลให้พบพีกใหม่ที่ 2,921 และ 2,851 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงตำแหน่งของหมู่ออกติล (ภาพที่ 33) และโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของไคโตแซนดัดแปรพบพีกของหมู่ออกติลที่

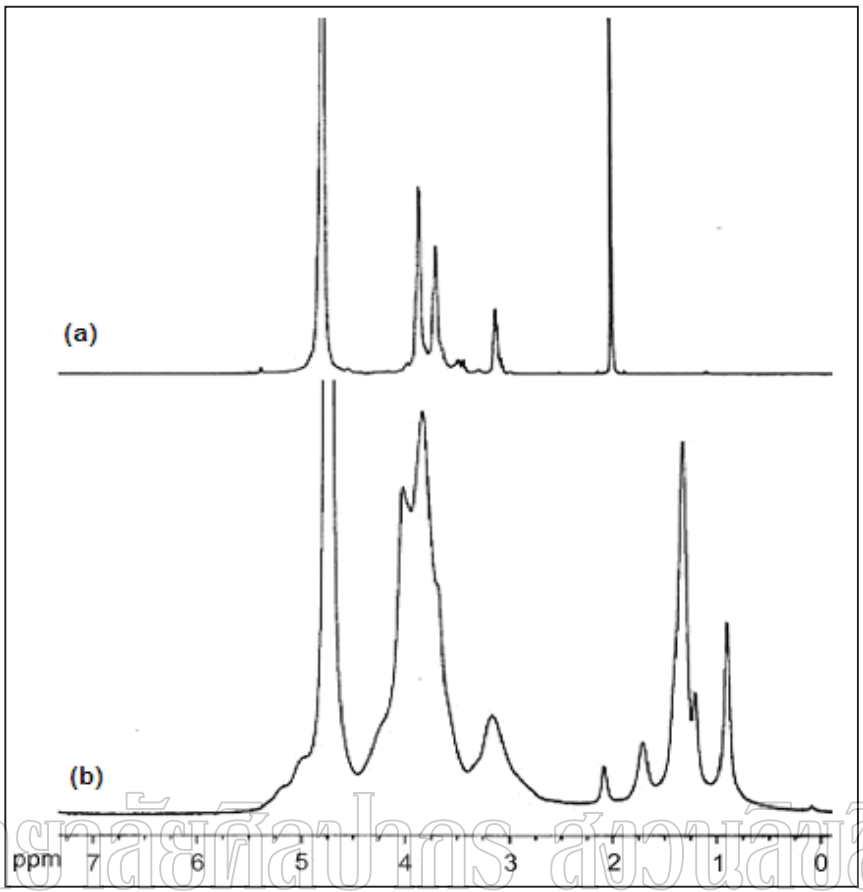
ตำแหน่ง 0.8-1.8 ppm (ภาพที่ 34) แสดงถึงหมู่เมทิล (CH_3) และเมทไทด์ (CH_2) เพิ่มขึ้นจากสารตั้งต้นไคโตแซนอย่างชัดเจน



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 33 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนและไคโตแซนดัดแปร; (a) สารตั้งต้นไคโตแซนน้ำหนักโมเลกุลต่ำและ (b) ไคโตแซนดัดแปร

ที่มา : Y. Zhang et al., “Potential of amphiphilically modified low molecular weight chitosan as a novel carrier for hydrophobic anticancer drug: Synthesis, characterization, micellization and cytotoxicity evaluation,” Carbohydrate Polymers 77 (2009) : 231-238.



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

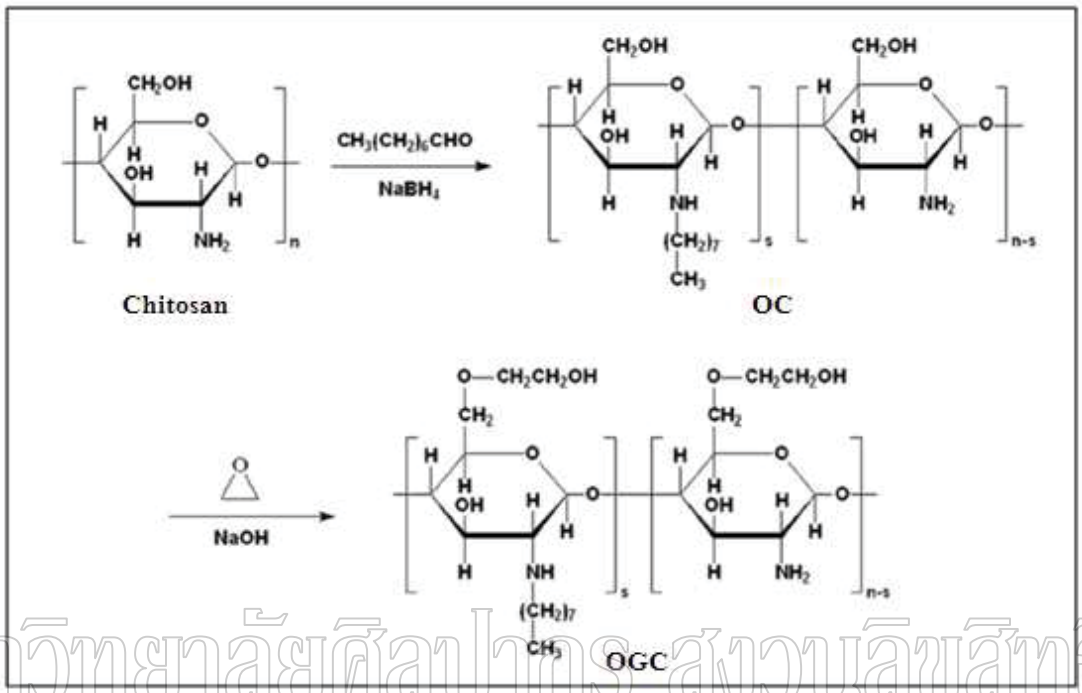
ภาพที่ 34 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนและไคโตแซนดัดแปร; (a) สารตั้งต้นไคโตแซนน้ำหนักโมเลกุลต่ำและ (b) ไคโตแซนดัดแปร

ที่มา : Y. Zhang et al., "Potential of amphiphilically modified low molecular weight chitosan as a novel carrier for hydrophobic anticancer drug: Synthesis, characterization, micellization and cytotoxicity evaluation," Carbohydrate Polymers 77 (2009) : 231-238.

ตัวอย่างที่ 2

การดัดแปรไคโตแซนที่หมู่ไฮดรอกซิลบริเวณคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และหมู่อะมิโนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เพื่อปรับสมบัติสำหรับใช้เตรียมในรูปแบบไมเซลล์เพื่อใช้บรรจุยาที่มีปัญหาละลายน้ำยากและมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงโดยใช้โซเดียมบอโรไฮเดรตกระตุ้นคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 บนโครงสร้างโมเลกุลไคโตแซนเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเติมหมู่ออกติลเข้าที่หมู่อะมิโน (C_2-NH_2) เกิดสารผลิตภัณฑ์เอ็นออกติลไคโตแซน (N-octyl chitosan) มีสมบัติไม่ละลายน้ำ จากนั้นเติมหมู่ไกลคอลลงไปที่หมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 โดยใช้สารอีพอกไซด์ในสภาวะด่างใน

การดำเนินปฏิกิริยาเพื่อให้ไคโตแซนดัดแปรสามารถละลายน้ำได้ เกิดสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายเอ็นออกติลโอไกลคอลไคโตแซน (N-octyl-O-glycol chitosan) (ภาพที่ 35)



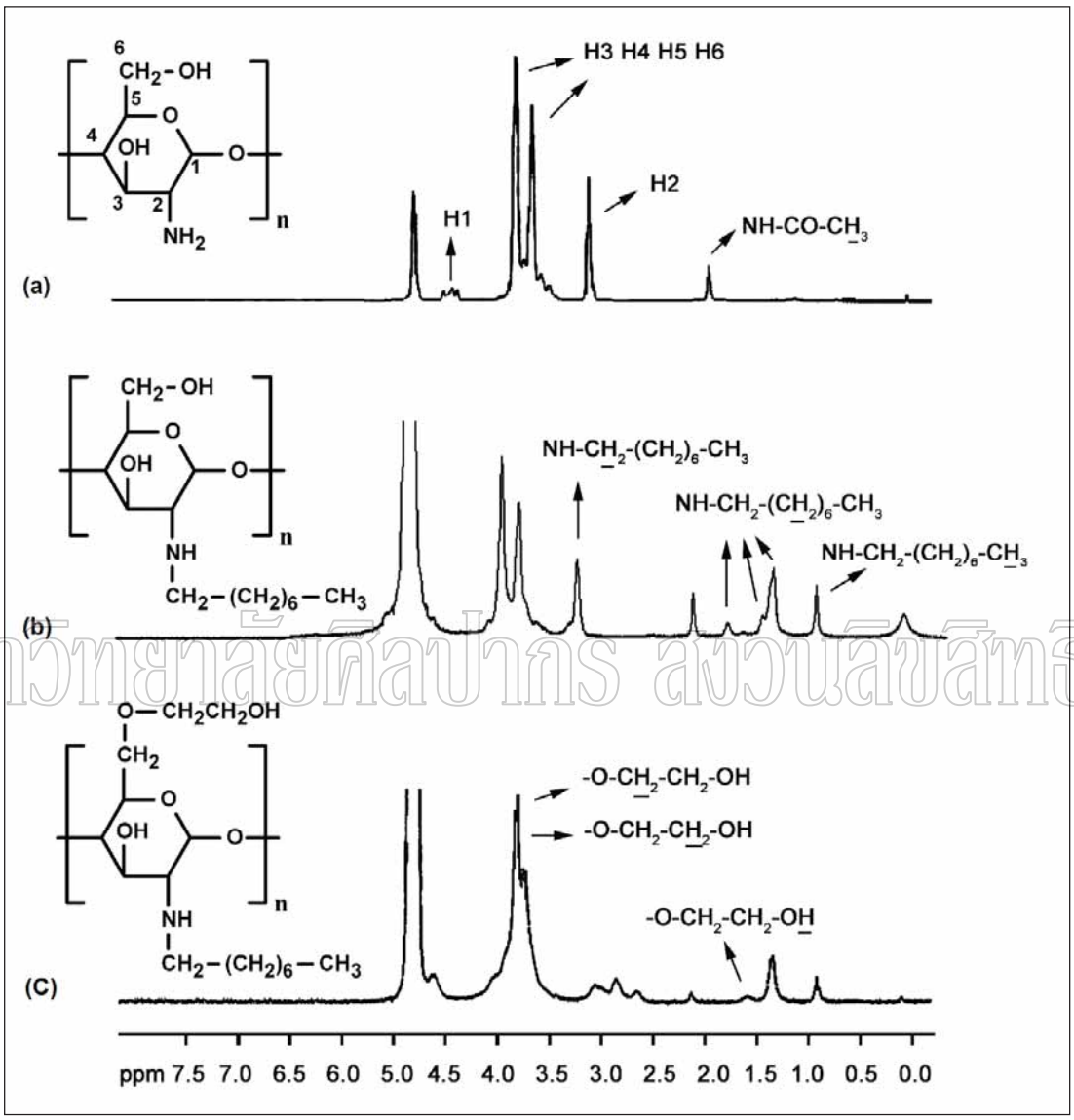
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 35 ปฏิกิริยาการดัดแปรไคโตแซนปรับสมบัติสำหรับใช้เตรียมในรูปแบบไมเซลล์; OC คือสารผลิตภัณฑ์เอ็นออกติลไคโตแซนและ OGC คือผลิตภัณฑ์สุดท้ายเอ็นออกติลโอไกลคอลไคโตแซน

ที่มา : M. Huo et al., “Synthesis and characterization of low-toxic amphiphilic chitosan derivatives and their application as micelle carrier for antitumor drug,” International Journal of Pharmaceutics 394 (2010) : 162-173.

สเปกทรัมจากโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ของสารตั้งต้นไคโตแซนและเอ็นออกติลไคโตแซน (ภาพที่ 36) พบว่าเมื่อเติมหมู่ออกติลปรากฏสัญญาณขึ้นที่ 0.95, 1.1-2.0 และ 3.0-3.4 ppm ซึ่งแสดงว่าไคโตแซนถูกดัดแปรโดยการแทนที่ที่ตำแหน่งหมู่อะมิโนด้วยสายอัลคิล และเส้นสเปกทรัมของสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายเอ็นออกติลโอไกลคอลไคโตแซนปรากฏสัญญาณที่ 3.5-4.2 ppm ซึ่งแสดงว่าไคโตแซนถูกดัดแปรโดยกลุ่มไกลคอลที่ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลจากการสังเคราะห์นี้จึงได้ไคโตแซนดัดแปรมีสมบัติทั้งชอบน้ำและไม่ชอบน้ำอยู่บนสายพอลิเมอร์สามารถ

นำไปสู่การนำไปใช้เป็นตัวพาเพื่อกักเก็บยาละลายน้ำยากสำหรับนำส่งในสภาวะสารละลายตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ



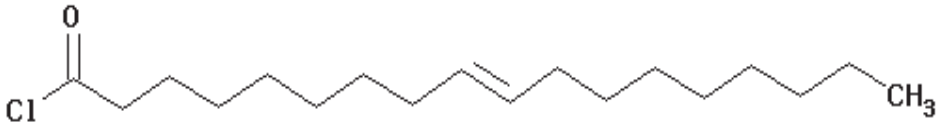
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 36 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นไคโตแซนและสารอนุพันธ์ไคโตแซน; (a) สารตั้งต้นไคโตแซน (b) เอ็นออกติลไคโตแซน (OC) และ (c) สารผลิตภัณฑ์เอ็นออกติลโอไกลคอลไคโตแซน (OGC)

ที่มา : M. Huo et al., “Synthesis and characterization of low-toxic amphiphilic chitosan derivatives and their application as micelle carrier for antitumor drug,” International Journal of Pharmaceutics 394 (2010) : 162-173.

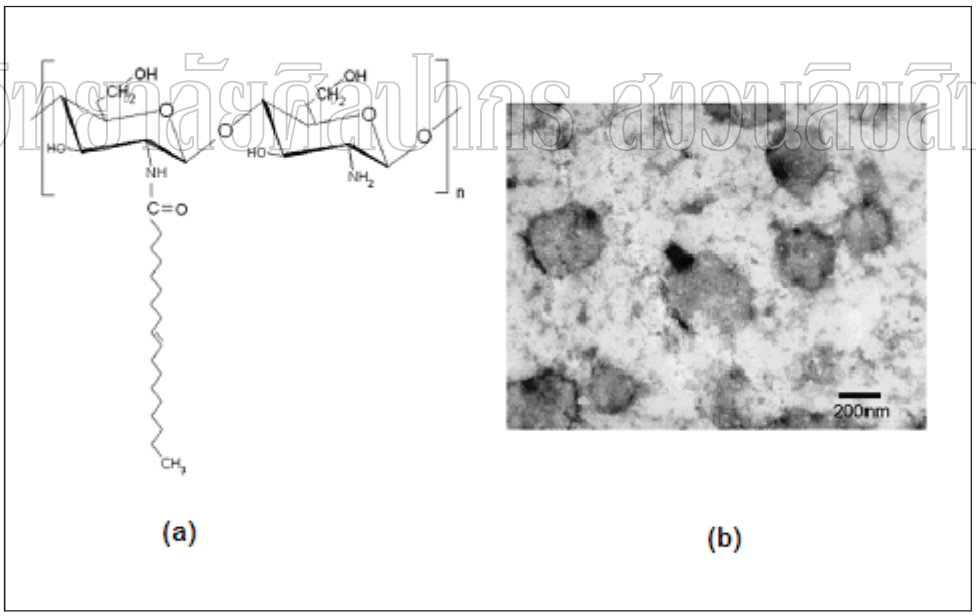
ตัวอย่างที่ 3

การดัดแปรไคโตแซนที่หมู่อะมิโนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 โดยใช้โอเลอิลคลอไรด์สายยาว (ภาพที่ 37) และหมู่ที่ใหญ่ของหมู่ไม่ชอบน้ำเติมเข้าไปในโมเลกุลช่วยให้ไคโตแซนดัดแปรสามารถเกิดเป็นไมเซลล์ที่คงตัวและปกป้องยาที่อยู่ภายในอนุภาคได้ ผลที่ได้คืออนุภาคทรงกลมขนาดประมาณ 253 นาโนเมตร (ภาพที่ 38) และเมื่อบรรจุยาแล้วมีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นเล็กน้อยประมาณ 315 นาโนเมตร มีการกระจายขนาดอนุภาคในช่วงแคบ (ภาพที่ 39)



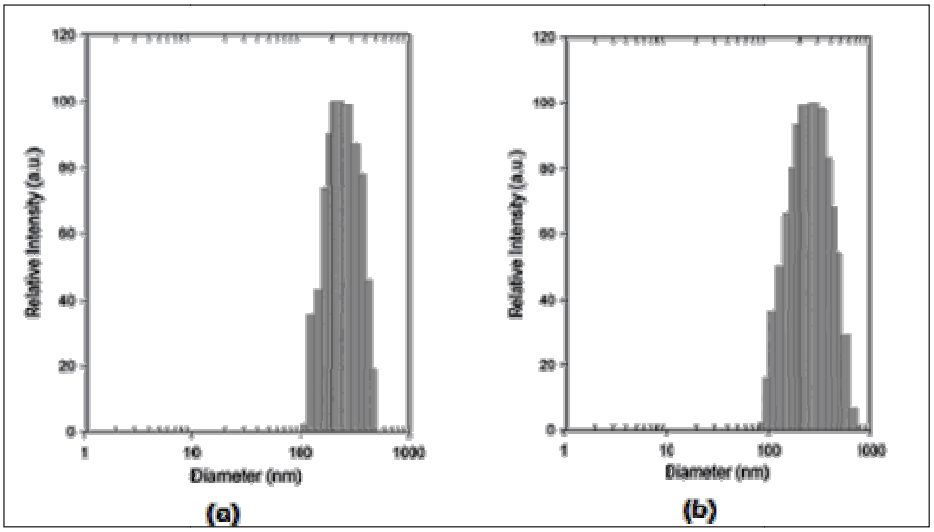
ภาพที่ 37 โครงสร้างทางเคมีของโอเลอิลคลอไรด์ (oleoyl chloride)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 38 โครงสร้างทางเคมีและภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคไคโตแซนดัดแปร; (a) โครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์ไคโตแซนโอเลอิลและ (b) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านสารผลิตภัณฑ์ไคโตแซนโอเลอิล

ที่มา : J. Zhang et al., “Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin,” Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 3 (2007) : 258-265.



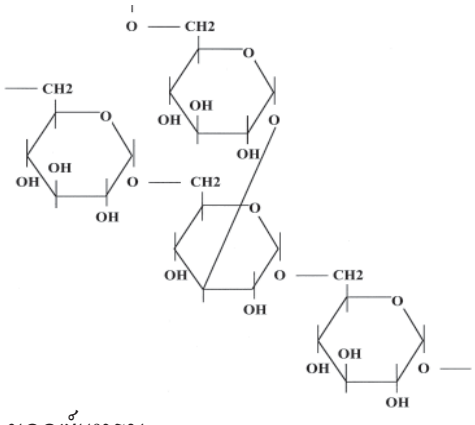
ภาพที่ 39 ลักษณะการกระจายขนาดอนุภาคของไคโตแซนดัดแปร; (a) อนุภาคไม่ได้บรรจุยาและ (b) อนุภาคที่บรรจุยาไว้ภายใน

ที่มา : J. Zhang et al., "Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin," Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 3 (2007) : 258-265.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

6.3 ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของเดกซ์แทรน

สารเดกซ์แทรนมีโครงสร้างสายหลักเป็นน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะอัลฟา (1→6) และสายกิ่งก้านต่อด้วยพันธะอัลฟา (1→3) หรือ (1→4) (ภาพที่ 40) สกัดได้จากแหล่งแบคทีเรียโดยส่วนใหญ่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

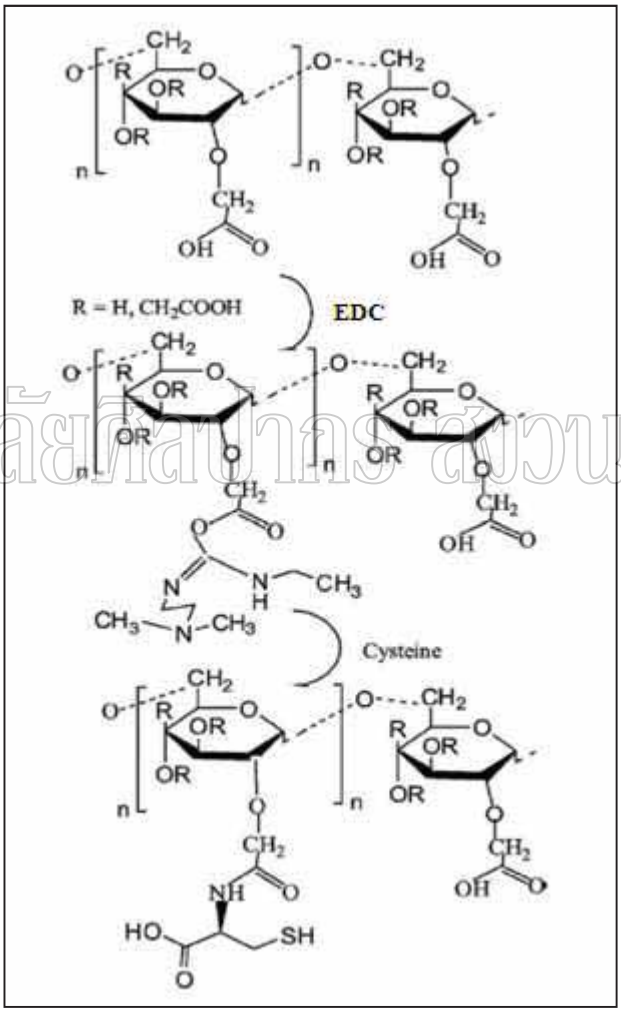


ภาพที่ 40 โครงสร้างทางเคมีของเดกซ์แทรน

ที่มา : R. Mehvar, "Dextrans for targeted and sustained delivery of therapeutic and imaging agents," Journal of Controlled Release 69 (2000) : 1-25.

ตัวอย่างที่ 1

การดัดแปรคาร์บอกซีเมทิลเดกซ์แทรนเพื่อเพิ่มสมบัติการยึดติดโดยการสร้างพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่อะมิโนปฐมภูมิของสารประกอบซัลไฟล์ดริลซิสเทอีน (sulfhydryl–cysteine) กับหมู่คาร์บอกซิลของพอลิเมอร์ โดยมี EDC เป็นสารช่วยในการเชื่อมขวาง (ภาพที่ 42) การดัดแปรส่งผลให้สมบัติการยึดติดและการพองตัวดีขึ้น เมื่อนำมาทดสอบการปลดปล่อยยาพบว่าสามารถปลดปล่อยยาที่เวลามากกว่า 6 ชั่วโมงใช้เป็นตัวพาในระบบนำส่งยาแบบออกฤทธิ์นานได้



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

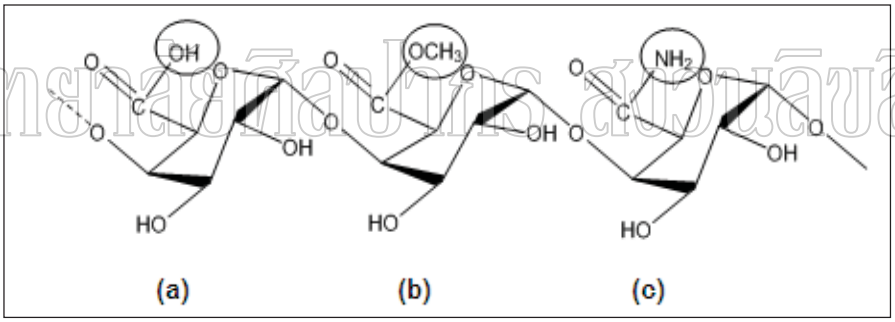
ภาพที่ 41 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ดัดแปรคาร์บอกซีเมทิลเดกซ์แทรน

ที่มา : G. Shahnaz et al., “Synthesis, characterization, mucoadhesion and biocompatibility of thiolated carboxymethyl dextran–cysteine conjugate,” Journal of Controlled Release 144 (2010) : 32-39.

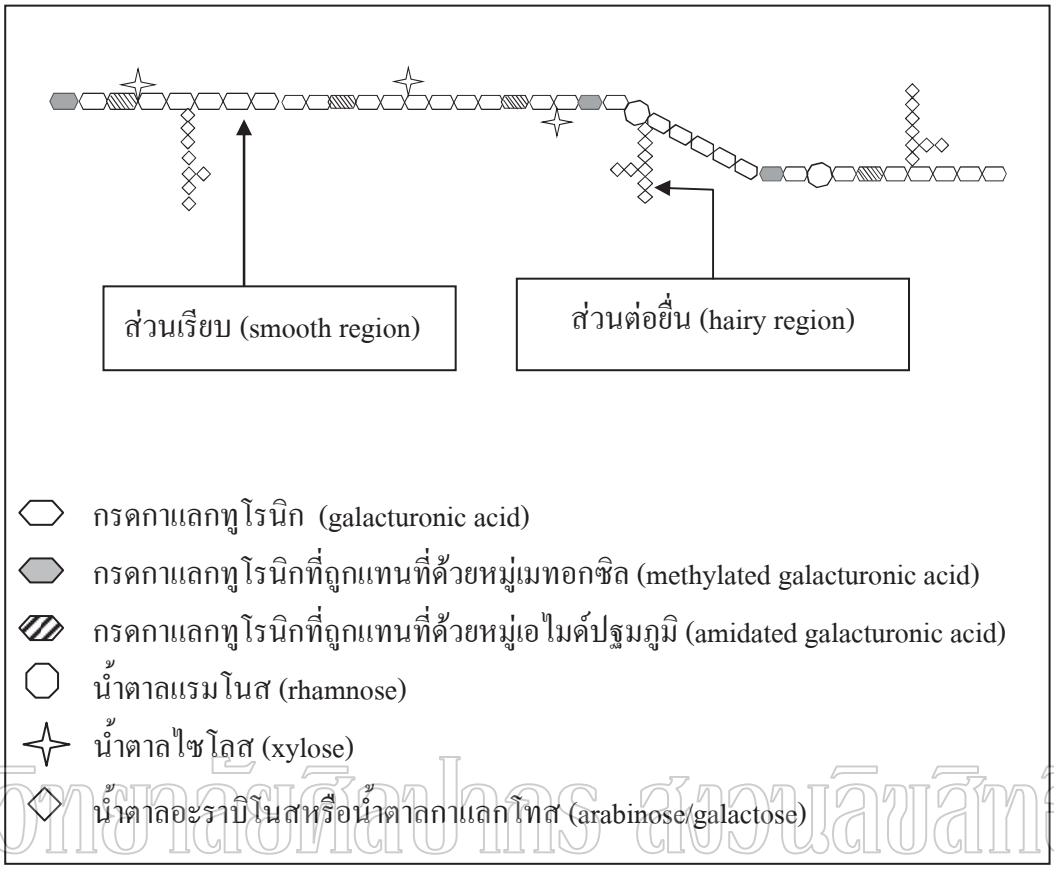
6.4 ตัวอย่างการดัดแปรโครงสร้างของเพกติน

เพกตินเป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งได้มาจากผนังเซลล์ปฐมภูมิและชั้นระหว่างเซลล์ของพืช น้ำตาลส่วนประกอบหลักของเพกตินประกอบไปด้วยกรดดีกาแลกทูโรนิกซึ่งเชื่อมต่อกันเป็นพอลิเมอร์สายตรงผ่านพันธะอัลฟา (1→4) ไกลโคซิดิก ส่วนประกอบของหมู่ต่างๆ ที่ต่อกับกรดกาแลกทูโรนิกแตกต่างกันไปเกิดจากการถูกเอสเทอริไฟด์ด้วยเมทานอล (ภาพที่ 42) ซึ่งในเพกตินที่นำมาจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ประกอบด้วยกรดกาแลกทูโรนิกไม่น้อยกว่าร้อยละ 75 ในขณะที่ส่วนกิ่งก้านที่แผ่ขยายออกไปจากสายหลักจากปฏิกิริยาเมทิลเอสเทอริฟิเคชันอยู่ในช่วงร้อยละ 30-80 เพื่อควบคุมความหนืด การไหลและสมบัติทางกายภาพของเพกติน เพกตินอาจเตรียมเป็นอนุพันธ์เอไมด์ซึ่งกลุ่มเมทอกซิล ($-OCH_3$) ในตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 6 (C-6) ถูกแทนที่ด้วยเอไมด์ ($-NH_2$) (ภาพที่ 42c) นอกจากนี้เพกตินจะยังมีส่วนประกอบของน้ำตาลชนิดอื่นๆ ต่อออกมาจากน้ำตาลสายหลัก ได้แก่ น้ำตาลแรมโนกาแลกทูโรแนน ไซโลกาแลกทูโรแนน อะพิโอกาแลกทูโรแนน เป็นต้น ลักษณะการเข้าต่อของน้ำตาลอื่นๆ เข้าเป็นสายกิ่งก้านดังแสดงภาพที่ 43

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 42 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลกรดกาแลกทูโรนิกซึ่งเป็นสายหลักของเพกตินเชื่อมต่อด้วยพันธะอัลฟา (1→4) ไกลโคซิดิกและที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 (C-6) มีการแทนที่แตกต่างกันตามแหล่งที่มาและการทำอนุพันธ์; (a) กรดกาแลกทูโรนิก (b) กรดกาแลกทูโรนิกที่แทนที่ด้วยหมู่เมทอกซิล (c) กรดกาแลกทูโรนิกที่แทนที่ด้วยหมู่เอไมด์ปฐมภูมิ

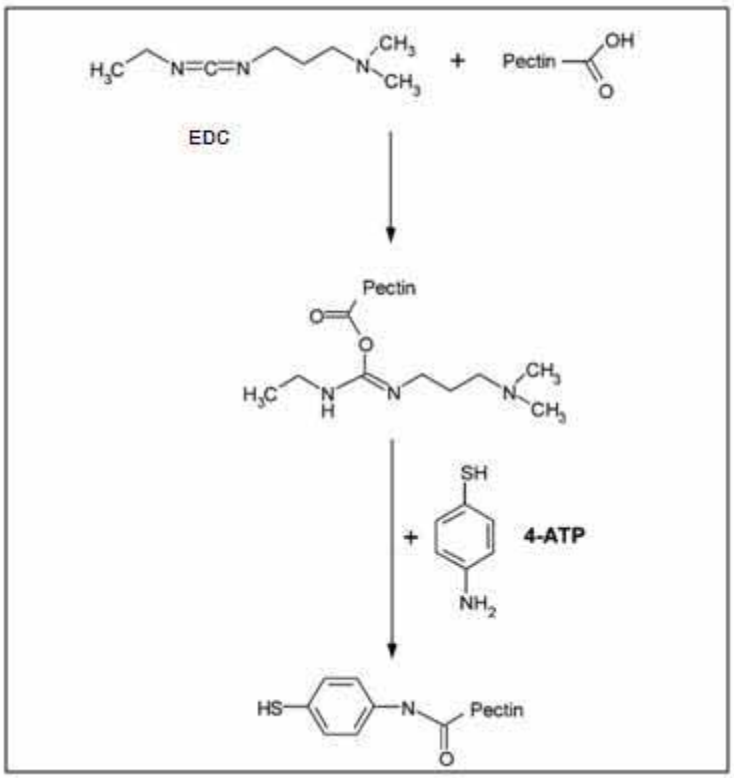


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 43 โครงสร้างของเพกตินประกอบด้วยส่วนเรียบเป็นสายหลัก (กรดกาแลกทูโรนิก) และส่วนที่ต่อยื่นออกมาจากสายหลักชนิดน้ำตาลแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มาของเพกติน

ตัวอย่างที่ 1

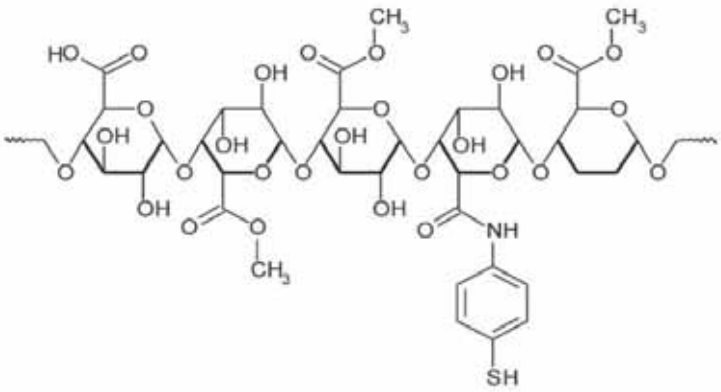
การดัดแปรเพกตินเพื่อใช้ในระบบนำส่งยาไปยังบริเวณลำไส้ใหญ่ โดยการเชื่อม 4-อะมิโนไทโอฟีนอล (4-aminothiophenol) เข้าที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกบนโครงสร้างหลักของเพกติน โดยใช้เอ็นไทรไดเมทิลอะมิโนโพรพิลเอ็นเอทิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์ (EDC) เป็นสารช่วยในปฏิกิริยาการเชื่อมขวาง (ภาพที่ 44) ผลิตภัณฑ์ที่ได้แสดงดังภาพที่ 45



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 44 ลำดับการเกิดปฏิกิริยาดัดแปรเพกตินด้วย 4-อะมิโนไทโอฟีนอล

ที่มา : G. Perera et al., “Novel pectin–4-aminothiophenole conjugate microparticles for colon-specific drug delivery,” Journal of Controlled Release 145 (2010) : 240-246.



ภาพที่ 45 โครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เพกติน-4-อะมิโนไทโอฟีนอล

ที่มา : G. Perera et al., “Novel pectin–4-aminothiophenole conjugate microparticles for colon-specific drug delivery,” Journal of Controlled Release 145 (2010) : 240-246.

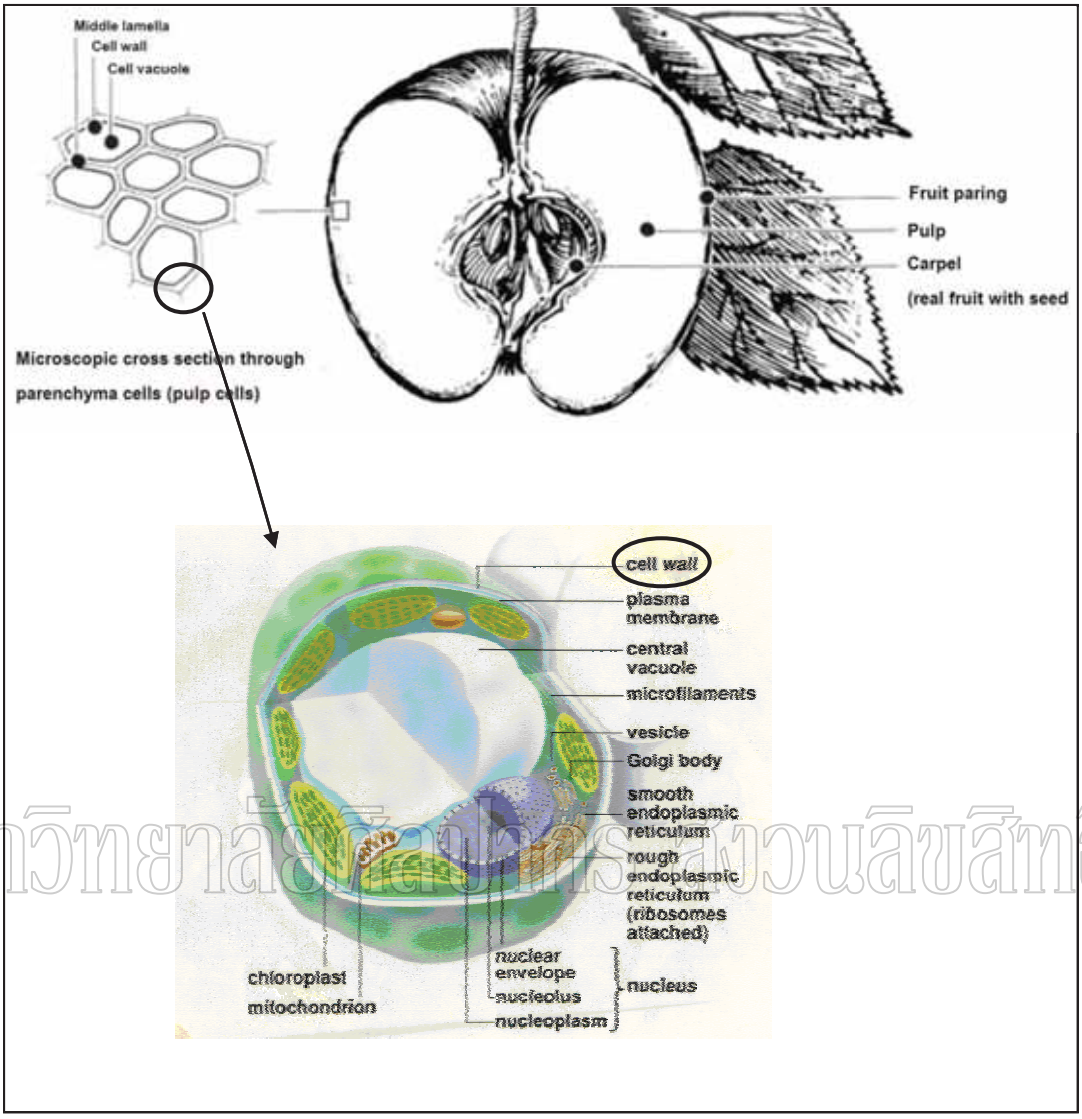
จากการศึกษาและทบทวนงานวิจัยที่ผ่านมาไม่พบงานวิจัยที่ดัดแปรโครงสร้างของเพกตินโดยการเพิ่มสมบัติความไม่ชอบน้ำ ดังนั้นการศึกษาการเตรียมเชื่อมขวางเพกตินเข้ากับสารอื่นให้มีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้นบนสายพอลิเมอร์ จึงเป็นงานที่น่าสนใจเหมาะในการนำมาศึกษาต่อไป

7. ข้อมูลเบื้องต้นของเพกติน

เพกตินพบได้โดยทั่วไปในผนังเซลล์พืชชั้นสูงซึ่งโดยทั่วไปจะทำหน้าที่ช่วยกำหนดขนาดและรูปร่างของเซลล์พืชและนอกจากนี้ยังช่วยแบ่งกั้นช่องระหว่างเซลล์ รวมถึงช่วยให้เซลล์พืชคงรูปได้ดี ภาพที่ 46 แสดงภาพวาดพืชและส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์พืชและภาพที่ 47 แสดงส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชชั้นสูงและตำแหน่งที่พบเพกติน หน้าที่เฉพาะของเพกตินในส่วนของผนังเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับจำนวนโมเลกุลของเพกตินที่ปรากฏในโครงสร้างเนื้อเยื่อ โครงสร้างของเพกตินสามารถเปลี่ยนแปลงได้หากมีเอนไซม์หรือเกิดปฏิกิริยาทางเคมีในระหว่างการเจริญเติบโตของพืช การบ่มให้สุก และระหว่างขั้นตอนการเก็บเกี่ยว

เพกตินมีมูลค่ามีการใช้งานอย่างแพร่หลายในเชิงพาณิชย์ เพราะสามารถใช้เป็นสารก่อเจลได้ในอุตสาหกรรมอาหาร วัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดเพกตินนิยมใช้วัตถุดิบที่เหลือใช้จากอุตสาหกรรมอาหารที่เกี่ยวข้องกับพืชผักมาใช้ทำให้มีต้นทุนในการผลิตไม่สูงนักและพืชผักหลายๆ ชนิดสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเพกตินได้เช่นกัน ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีเพกตินในปริมาณที่แตกต่างกัน แต่สำหรับการสกัดเพื่อให้ได้เพกตินในระดับอุตสาหกรรมใช้วัตถุดิบจากกากเมล็ดทานตะวัน กากแอปเปิ้ล เปลือกส้ม กากของชูการ์บีท ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหาร ปริมาณเพกตินที่สกัดออกมาได้จากวัตถุดิบแตกต่างกันมีความแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

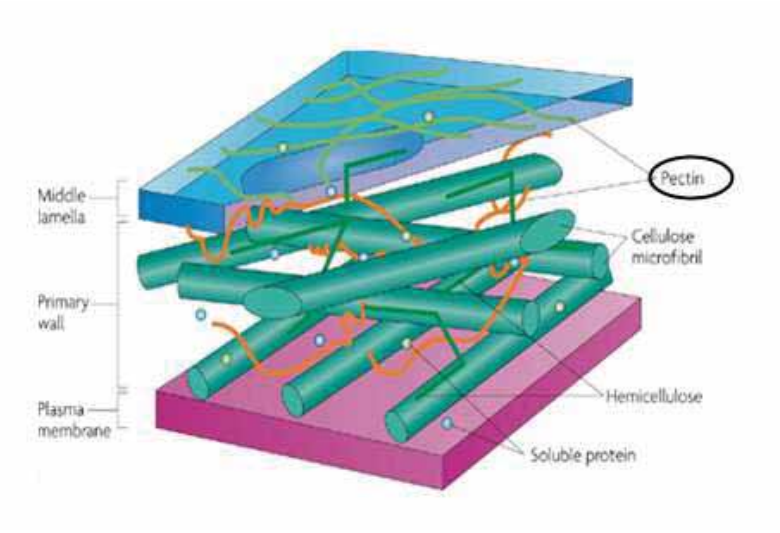


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 46 ภาพวาดพืชและส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์พืช

ที่มา : Herbstreith & Fox Inc., The specialist for pectin [Online], accessed 26 November 2009. Available from http://www.herbstreith-fox.de/typo3temp/GB/33842e705a.jpg

: Online digital education connection [Online], accessed 25 December 2010. Available from http://www.odec .ca/projects /2004/mcgo4s0 /public_html/t4/ plantcell.gif



ภาพที่ 47 ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชชั้นสูงและตำแหน่งที่พบเพกติน

ที่มา : Nature review [Online], accessed 11 January 2011. Available from http://www.nature.com /nrg/journal/v9/n6/images/nrg2336-f1.jpg.html

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 5 ปริมาณเพกตินที่สกัดได้จากวัตถุดิบชนิดต่างกัน

ชนิดวัตถุดิบ	ปริมาณเพกติน (ร้อยละ)
กากแอปเปิ้ล	10-15
ชูการ์บีท	10-20
กากเมล็ดทานตะวัน	15-25
เปลือกพืชตระกูลส้ม	20-35

ที่มา : Herbstreith & Fox Inc., The specialist for pectin [Online], accessed 26 November 2009. Available from http://herbstreich-fox.com/from research and development.html

การนำเพกตินมาใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารในเชิงพาณิชย์ ต้องได้รับการอนุญาตตามกฎหมายของประเทศที่นำเข้าเพกตินเพื่อการใช้งานซึ่งโดยทั่วไปจะใช้ข้อกำหนดขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (The Food and Agriculture Organization of the United Nation: FAO) ปี 1992 หรือฟูดเคมีคัลโคเดกซ์ (Food Chemical Codex) ปี 1996 ส่วนการนำเข้าเพกตินเพื่อการใช้เป็นสารปรุงแต่งยาอาจใช้ข้อกำหนดในเภสัชตำรับประเทศสหรัฐอเมริกา (United State Pharmacopeia) ซึ่งได้มีการจัดพิมพ์เผยแพร่ข้อกำหนดมาตรฐานของเพกติน การทดสอบเพื่อ

พิสูจน์เอกลักษณ์ของเพกตินและข้อกำหนดเกี่ยวกับปริมาณสารปนเปื้อนที่สามารถยอมรับได้ การปรับปรุงข้อมูลของเพกตินล่าสุดปรากฏในเภสัชตำรับประเทศสหรัฐอเมริกาฉบับปรับปรุงครั้งที่ 30 (USP30-NF25) ปี 2007 หน้า 2869 ซึ่งระบุไว้ว่า "เพกตินคือคาร์โบไฮเดรตที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ โดยผ่านกระบวนการใช้กรดอ่อนสกัดออกมาจากเปลือกด้านในของพืชตระกูลส้มหรือกากแอปเปิ้ล จะต้องประกอบด้วยส่วนของกรดกาแลกทูโรนิกที่โดนเติมหมู่เมทอกซิล (methoxylated galacturonic acid) เพกตินที่สกัดออกมาได้ต้องมีปริมาณหมู่เมทอกซิล ($-OCH_3$) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 6.7 และปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก ($C_6H_{10}O_7$) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 74 เมื่อคำนวณเปรียบเทียบกับน้ำหนักแห้งทั้งหมด" ซึ่งในโมโนกราฟนี้อ้างอิงเฉพาะเพกตินบริสุทธิ์ที่ไม่ผ่านการเติมแต่ง ส่วนคำจำกัดความของเพกตินตามความหมายขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) คือ เพกตินประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ กรดกาแลกทูโรนิกซึ่งในบางตำแหน่งถูกแทนที่ด้วยเมทิลเอสเทอร์และส่วนประกอบอื่นๆ อันได้แก่ เกลือโซเดียม โพแทสเซียมและแอมโมเนียม ซึ่งเพกตินจะต้องได้มาจากการสกัดพืชที่สามารถบริโภคได้ โดยทั่วไปนิยมใช้พืชตระกูลส้มและแอปเปิ้ลไม่มีการใช้สารละลายอินทรีย์ทำให้ตกตะกอน นอกเหนือจากการใช้เมทานอล เอทานอล และไอโซโพรพานอล ในเพกตินบางชนิดจะมีบางส่วนของเมทิลเอสเทอร์ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอไมด์ชนิดปฐมภูมิ โดยผ่านการเติมแอมโมเนียภายใต้สภาวะด่าง สำหรับผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์มีการเติมน้ำตาลเพื่อปรับให้ได้มาตรฐานเดียวกันหรือผสมกับเกลือบัฟเฟอร์ชนิดที่ใช้สำหรับอาหารเพื่อควบคุมความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์และเพื่อควบคุมลักษณะของผลิตภัณฑ์เมื่อนำไปใช้งาน ซึ่งมีข้อกำหนดความจำเพาะเจาะจงสำหรับความเป็นกรดด่าง ความแข็งแรงของเจล ความหนืด ร้อยละของการแทนที่ด้วยหมู่เมทิลเอสเทอร์และลักษณะภายนอกเมื่อนำไปใช้งาน นอกจากนั้นเพกตินยังได้รับความสนใจในแง่ของโภชนาการโดยจัดเป็นเส้นใยอาหารเนื่องจากโครงสร้างประกอบด้วยส่วนที่สามารถละลายน้ำได้และส่วนที่ไม่ละลายน้ำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

7.1 ความเสถียรทางเคมีของเพกติน

สารละลายเพกตินมีความคงตัวและเสถียรภาพสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดด่าง 3-4 แต่หากอยู่ในที่อุณหภูมิต่ำพันธะเอสเทอร์อาจหลุดออกส่งผลให้น้ำตาลในสายกิ่งเกิดการไฮโดรไลซ์แต่ไม่ส่งผลต่อสายหลักเพราะพันธะระหว่างกรดกาแลกทูโรนิกจะมีความเสถียรสูงกว่า ในขณะที่พันธะอาราบิโนซิลฟิวราโนส จะแตกพันธะได้ที่สภาวะความเป็นกรดด่างต่ำ พันธะเอสเทอร์ที่ปรากฏในเพกตินสามารถจะแตกออกได้ง่าย ภายใต้สภาวะด่างและอุณหภูมิต่ำ เช่น สภาวะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-6 ชั่วโมง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อน้ำหนักโมเลกุลของเพกตินอย่างมีนัยสำคัญ การหลุดออกของหมู่เมทิลเอสเทอร์ที่อุณหภูมิต่ำเกิดได้เมื่อมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 8 และปฏิกิริยาเกิดอย่างรวดเร็วมากขึ้นอีก

ถ้าเพิ่มความเป็นกรดด่างให้สูงขึ้น ต้องอาศัยสภาวะด่างสำหรับการเกิดปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชัน เช่น ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง อาจเกิดการแย่งกันเกิดระหว่างปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันและปฏิกิริยาเบตาอิลิมิเนทีฟดีโพลีเมอไรเซชัน (ß-eliminative depolymerization) ทั้งสองปฏิกิริยานี้อาจเกิดได้เร็ว ถึงแม้ค่าความกรดด่างจะสูงกว่า 7 เล็กน้อยที่อุณหภูมิห้อง แต่ที่อุณหภูมิสูงการย่อยสลายนี้จะเกิดได้ในสภาวะกรดอ่อน (ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุล สำหรับปฏิกิริยาเบตาอิลิมิเนตดีโพลีเมอไรเซชันเกิดขึ้นเฉพาะที่ตำแหน่งพันธะไกลโคซิดิกของกรดกาแลกทูโรนิกเท่านั้นโดยไม่มีผลกับส่วนเมทิลเอสเทอร์

7.2 แนวทางการใช้เพกตินในปัจจุบัน

สำหรับอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำเพกตินมาใช้เป็นส่วนประกอบอาหารประเภทของหวาน เยลลี่กลิ่นผลไม้ วัสดุเคลือบตกแต่งอาหาร สำหรับอุตสาหกรรมขนมอบใช้เพกตินเป็นส่วนประกอบของแยมที่สามารถผ่านการอบที่อุณหภูมิสูงได้โดยไม่เสียความคงตัวหรือผสมกับผลไม้เชื่อมเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบโยเกิร์ต อุตสาหกรรมนมเปรี้ยวใช้เพกตินเพิ่มเสถียรภาพของน้ำนม อุตสาหกรรมเครื่องสำอางใช้เพกตินเพิ่มเสถียรภาพของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและพบการใช้เพกตินแทนไขมันในอาหารแคลอรี่ต่ำโดยทำปฏิกิริยาร่วมกับแคลเซียมชื่อทางการค้าคือ Slendid®

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ในปัจจุบันเริ่มมีการนำเพกตินมาประยุกต์ใช้ในงานด้านเภสัชกรรมอย่างหลากหลาย โดยมีวัตถุประสงค์ต่างๆ เช่น ใช้เป็นอุปกรณ์ปิดแผลและสารป้องกันกรดไหลย้อนหรือ นำเพกตินมาใช้ร่วมกับพอลิเมอร์อื่นเพื่อให้เกิดสมบัติการละลายน้ำหรือการพองตัว เช่น ใช้ผสมร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและเจลาติน มีการนำไปผสมกับพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำอื่นๆ เพื่อเตรียมฟิล์มและนำมาใช้ปิดแผล สมบัติที่สำคัญของพอลิเมอร์ที่สามารถพองตัวได้ คือดูดซับของเหลวที่ไหลออกมาจากบาดแผลและสามารถติดอยู่กับผิวหนังที่มีความชื้นได้ ซึ่งมีการเสริมฤทธิ์เพื่อให้มีผลในการรักษาที่ดีขึ้นโดยการใช้เพกตินที่สกัดจากพืชที่มีสารมีฤทธิ์ในทางการรักษา เช่น พืชกลุ่มผักกาด (plantago) และโสมชนิดหนึ่ง (panax ginseng) มีรายงานการนำเพกตินมาใช้ในกรณีบรรเทาอาการระคายเคืองในหลอดอาหารเพราะกรดไหลย้อนจากกระเพาะขึ้นมาสู่หลอดอาหาร ซึ่งใช้เพกตินที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์ต่ำกว่าร้อยละ 10 ผสมกับสารลดกรด สารเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อกลืนลงไปจะกลายเป็นโฟมและปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ค่าอยู่ที่ประมาณ 3 ช่วยให้กระเพาะลดความเป็นกรดลง (Zerrin, Yüksel and Baykara 2006 : 261-268) มีรายงานการวิจัยที่กล่าวถึงประสิทธิภาพของเพกตินในการช่วยลดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือดมีผลต่อการสันดาปของน้ำตาลกลูโคส บรรเทาและระงับอาการท้องเสีย ใช้เป็นสารล้างพิษ ป้องกัน

ปฏิกิริยาการเกิดก๊าซในลำไส้เล็ก มีผลช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านทานการอักเสบและติดเชื้อที่บริเวณกรวยไต (Endress 1991 : 251-268; Willats, Knox and Mikkelsen 2006 : 97-104; Mattes 2008 : 1-4)

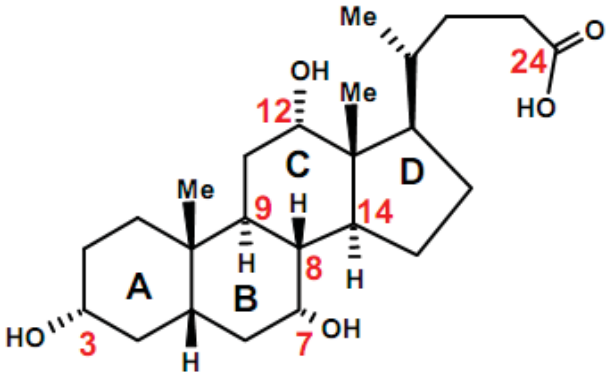
8. การดัดแปรโดยโมเลกุลไม่ชอบน้ำ

โมเลกุลไม่ชอบน้ำที่นิยมนำมาดัดแปรโครงสร้างพอลิเมอร์ ได้แก่ โมเลกุลสายตรง เช่น พอลิเอททิลีนไกลคอล กลุ่มกรดไขมันโมเลกุลสายยาว เช่น กรดเฮกซาโนอิก กรดเดคาโนอิก กรดปาล์มมิติก กรดสเตียริกและกรดโอเลอิก กลุ่มพอลิอะคริเลต เช่น พอลิเมทาคริเลต พอลิไอโซบิวทิลไซยาโนอะคริเลต โมเลกุลกลุ่มคาร์บอนเป็นวงต่อกันและไม่ชอบน้ำ ได้แก่ คอเลสเตอรอล อนุพันธ์ของคอเลสเตอรอลและกรดน้ำดี เช่น กรดดีออกซีโคลิก กรดเบตาคอลานิก จากการเติมโมเลกุลเหล่านี้เข้าไปเพื่อดัดแปรพอลิเมอร์ จะทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของอนุภาคในรูปแบบไมเซลล์ ซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติความเป็นแอมฟิฟิลิกของพอลิเมอร์ซึ่งสำคัญสำหรับการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ช่วยเพิ่มการละลายของสารที่ละลายน้ำยาก การดูดซับคอเลสเตอรอล ไขมันและวิตามินที่สามารถละลายในไขมันในร่างกาย (Liu et al. 2008 : 1650-1662)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

8.1 กรดน้ำดีและเกลือน้ำดี

กรดน้ำดีคือสารสเตียรอยด์ซึ่งประกอบไปด้วยคาร์บอนจำนวน 24 อะตอม ในจำนวนนี้มีหนึ่งคาร์บอนเป็นหมู่คาร์บอกซิเลตและมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่หลายหมู่ น้ำดีสร้างขึ้นจากคอเลสเตอรอลในตับผ่านปฏิกิริยาขั้นตอนซับซ้อนและมีเอนไซม์ไซโตโครมพี 40 (P40) ของเซลล์ตับเข้ามาเกี่ยวข้อง หมู่คาร์บอกซิลิกส่วนใหญ่บนโมเลกุลของกรดน้ำดีสามารถแตกตัวได้อย่างสมบูรณ์ทำให้เกิดประจุลบ แต่กรดน้ำดีชนิดโคลิก (cholic) และชนิดคีโนดีออกซีโคลิก (chenodeoxycholic) เป็นกรดน้ำดีชนิดปฐมภูมิ หลังจากผ่านกระบวนการชีวสังเคราะห์สารเหล่านี้จะถูกกระตุ้นโดยโคเอนไซม์เอจากนั้นจะเข้าจับกับไกลซีน (glycine) หรือ เทารีน (taurine) เกิดการจัดตัวเป็นเอซิดเอไมด์ (acid amide) เรียกสารนี้ว่ากรดน้ำดีที่ถูกเข้าคู่ (conjugate bile acid) หรือเกลือน้ำดี (bile salt) ซึ่งสารผลิตภัณฑ์มีสมบัติความชอบน้ำและไขมันสูงกว่าสารในขั้นปฐมภูมิ เฉพาะกรดน้ำดีชนิดดีออกซีโคลิก (deoxycholic) และลิโทโคลิก (lithocholic) เท่านั้นที่สร้างในลำไส้เล็กโดยอาศัยเอนไซม์เข้าไปย่อยหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 7 (C-7) ของกรดน้ำดีปฐมภูมิเรียกผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนนี้ว่ากรดน้ำดีทุติยภูมิ (Koolman and Roehm 2004 : 314) ชนิดและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุลของกรดน้ำดี ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของกรดน้ำดีและตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลบนโมเลกุลแสดงในภาพที่ 48 และตารางที่ 6



ภาพที่ 48 โครงสร้างทางเคมีของกรดน้ำดี

ที่มา: S. Mukhopadhyay and U. Maitra, “Chemistry and biology of bile acids,” Current Science 87 (2004) : 1666-1683.

ตารางที่ 6 ชนิดกรดน้ำดีและตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุล

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ชนิดกรดน้ำดี	ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล (OH)		
กรดน้ำดีชนิดปฐมภูมิ			
- กรดโคลิก (cholic acid)	C-3	C-7	C-12
- กรดคีโนดีออกซีโคลิก (chenodeoxycholic acid)	C-3	C-7	/
กรดน้ำดีชนิดทุติยภูมิ			
- กรดดีออกซีโคลิก (deoxycholic acid)	C-3	/	C-12
- กรดลิโทโคลิก (lithocholic acid)	C-3	/	/

ที่มา : J. Koolman and K.H. Roehm, Color Atlas of Biochemistry (Stuttgart : George Thieme Verlag, 2004), 315.

8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดน้ำดี

รายงานการวิจัยมีการใช้กรดดีออกซีโคลิกในงานพัฒนาระบบการนำส่งยีนโดยกรดดีออกซีโคลิกได้ถูกนำมาใช้เพื่อดัดแปรโครงสร้างของไคโตแซนโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อให้โครงสร้างมีลักษณะโมเลกุลที่ทั้งชอบน้ำและชอบไขมันอยู่บนโครงสร้างเดียวกัน ซึ่งสมบัตินี้ได้นำไปใช้เพื่อส่งเสริมการนำส่งยีนเนื่องจากไคโตแซนดัดแปรสามารถประกอบตัวเองในสารละลาย

ตัวกลางที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบได้อนุภาคลักษณะคล้ายไมเซลล์ ขนาดอยู่ในช่วง 200-240 นาโนเมตร สามารถกักเก็บสารที่ละลายน้ำยากไว้ภายในอนุภาคได้ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) โดยใช้เซลล์ไตมนุษย์พบความเป็นพิษในระดับที่ต่ำและมีประสิทธิภาพที่ดีในการนำส่งยีน (Chae et al. 2005 : 330-344) และมีรายงานการวิจัยการใช้กรดน้ำดีเพื่อช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของระบบนำส่งยาโดยการรับประทาน ซึ่งสามารถเตรียมพอลีแลกไทด์ไกลโคไลด์ในรูปแบบอิมัลชันและใช้กรดดีออกซีโคลิกผสมร่วมกับสารละลายตัวกลางเพื่อช่วยในการซึมผ่านเซลล์ Caco-2 พบว่าสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านในการทดลองสภาวะภายนอกร่างกายและให้ผลในทิศทางเดียวกันเมื่อทดสอบสภาวะภายในร่างกายสัตว์ทดลอง (Samstein et al. 2008 : 703-708)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. Acetone, analytical grade (lot no. 08121108, RCI Labscan Ltd., Thailand)
2. Cellulose tubular membrane, molecular weight cut off 6,000-8,000 (Cellu-Sep T2®, Membrane Filtration Products Inc, U.S.A.)
3. Deoxycholic acid 99% (lot no. 1372788, Fluka Analytical, Italy)
4. Ethylenediamine (batch 056K0721, Sigma, U.S.A.)
5. Filter paper 110 mm (lot no. F01671427, Whatman International Ltd., England)
6. Formamide (batch 0808223, Ajax Finechem, Australia)
7. N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride (lot no. 037K0753, Sigma, U.S.A.)
8. N,N-dimethylformamide (batch 0805347, Ajax Finechem, Australia)
9. N-hydroxysuccinimide (lot. A0266926, ACROS organic, U.S.A.)
10. Pectin classic (unstandardized) CU201, molecular weight 200,000 Da, degree of esterification 68-76 % (lot no.00501087, Herbstreith & Fox, Germany)
11. Pectin classic (unstandardized) CU701, molecular weight 70,000 Da, degree of esterification 32-38 % (lot no.00412079, Herbstreith & Fox, Germany)
12. Potassium bromide for IR-spectroscopy (lot B0351607905)
13. Silica gel 60 F_{254} for column chromatography (0.04-0.06 mm) (lot no. TA15225 85844, Merck KGaA, Germany)
14. Sodium sulphate (lot no. A0041849909, Merck KGaA, Germany)
15. Tetrahydrofuran (lot no. T2061-1-251, ORëC, New Zealand)
16. Thin layer chromatography silica gel 60 F_{254} aluminium sheet 20x20 cm (lot no. HX814564, Merck KGa.A, Germany)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. Atomic force microscope (Multimode VIII, Veeco Asia Pte Ltd, Singapore)
2. Cappillary tube ขนาด 2 ไมโครลิตร
3. Differential scanning calorimetry (Pyris Sapphire DSC, Perkin-Elmer, Japan)
4. Drop shape instrument B frame system (FTA 1000, First Ten Angstrom, U.S.A.)
5. Fourier transform infrared spectroscopy (4700, Thermo Nicolet, Japan)
6. Hot stage (FP82HT, Mettler-Toledo, Switzerland)
7. Hot air oven (UT-6060, Hareus, Germany)
8. Laser scattering particle size distribution analyzer (LA-950, Horiba Ltd., Japan)
9. Optical microscope (CX41RT, Olympus Corporation, Japan)
10. Nuclear magnetic resonance spectroscopy (ADVANCE 300, Bruker, Germany)
11. pH meter (HI4522, Hanna Instruments, Hungary)
12. Rotary evaporator (Rotavapor R-205, Büchi, Switzerland)
13. Round bottom flask ขนาด 50, 100 และ 250 มิลลิลิตร
14. Scanning electron microscope (Maxim-2000, CamScan Analytical, England)
15. Spectrofluorophotometer (RF-1501, Shimadzu, Japan)
16. Separatory funnel ขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร
17. Top loading balance (CP2246, Sartorius, Germany)
18. Transmission electron microscope (JEM-1230, JOEL Corporation, Japan)
19. UV-cabinet (ENF-260C/FE, Spectronic Corporation, U.S.A.)
20. Vacuum freeze dryer (Freezone 2.5, Labconco Corporation, U.S.A.)
21. Zeta potential analyzer (Zeta plus, Brookhaven, U.S.A.)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

3. วิธีดำเนินการวิจัย

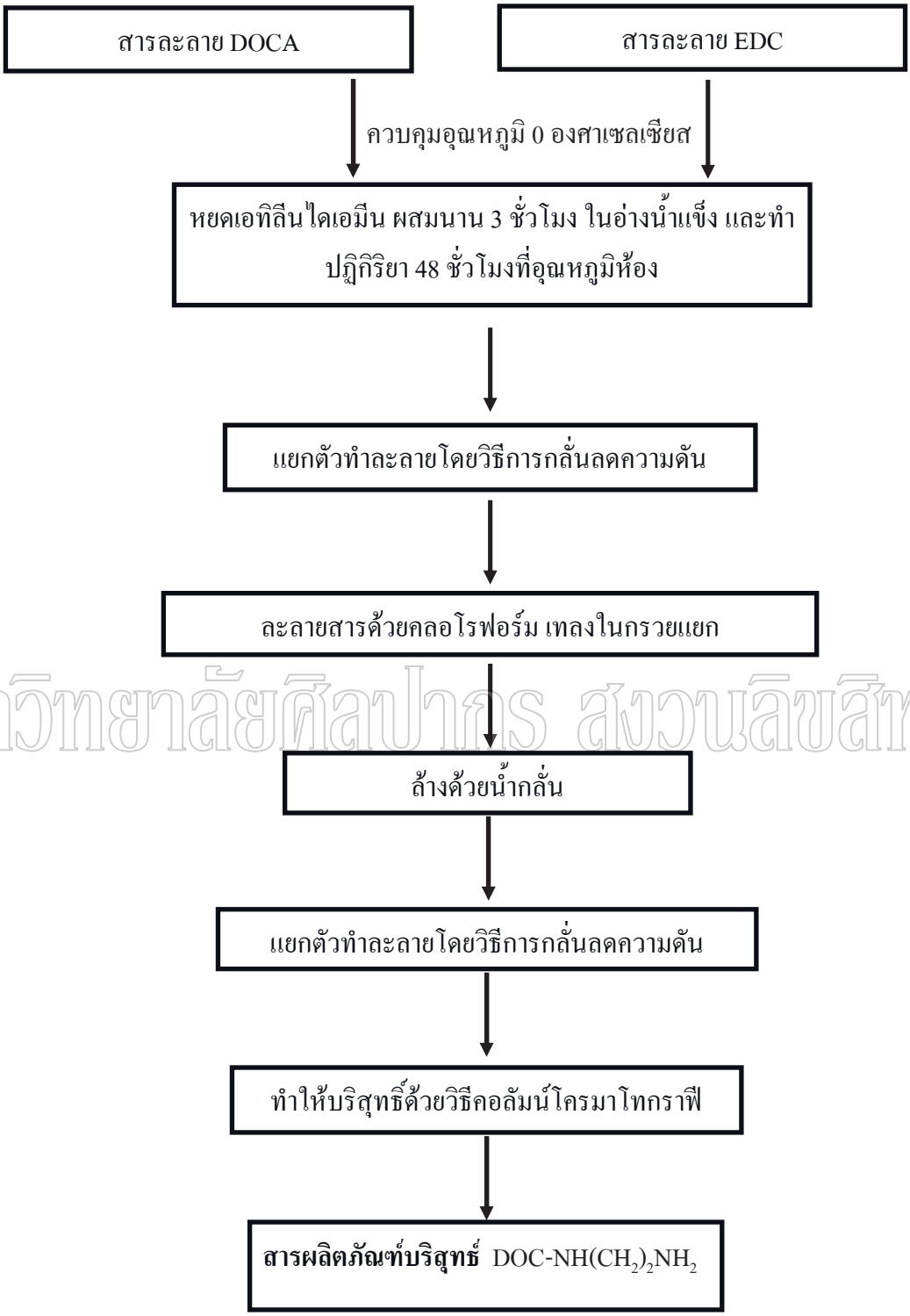
3.1 การดัดแปรโครงสร้างของเพกตินและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่ได้

การดัดแปรโครงสร้างของเพกตินโดยต่อกับกรดดีออกซีโคลิกโดยอาศัยเอทิลีนไดเอมีน (ethylenediamine) เป็นตัวเชื่อมโดยแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

3.1.1 การเตรียมเอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ (N-deoxycholyl-aminoethyl amide หรือ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$)

การเตรียมเอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ ใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Hu และคณะ (Hu et al. 2008 : 220-227) โดยการละลายกรดดีออกซีโคลิก (deoxycholic acid หรือ DOCA) 5.0 กรัมและไดเมทิลอะมิโนโพรพิลเอทิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์ (N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride หรือ EDC) 10 กรัม ด้วยเมทานอลปริมาตร 40 มิลลิลิตรซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 0 องศาเซลเซียสแล้วเทผสมกัน หยดเอทิลีนไดเอมีนลงไปในปริมาณตามอัตราส่วนโมลของเอทิลีนไดเอมีนต่อ DOCA เท่ากับ 3:2 ผสมให้เข้ากันและแช่ในอ่างน้ำแข็งนาน 3 ชั่วโมงพร้อมกับคนตลอดเวลา แล้วปล่อยให้อุณหภูมิสูงขึ้นจนเท่าอุณหภูมิห้อง รอจนครบ 48 ชั่วโมง แยกตัวทำละลายออกโดยวิธีการกลั่นลดความดัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตรและสกัดผลิตภัณฑ์ด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 10 มิลลิลิตรซ้ำ 3 ครั้ง นำชั้นคลอโรฟอร์มไประเหยโดยวิธีการกลั่นลดความดัน นำสารที่ได้เข้าสู่ขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลขนาดอนุภาค 0.040-0.063 มิลลิเมตรเป็นวัฏภาคคงที่และใช้คลอโรฟอร์มผสมเมทานอลในอัตราส่วน 1:9 เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ แผนภาพการสังเคราะห์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และการทำให้บริสุทธิ์โดยสังเขปแสดงดังภาพที่ 49

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 49 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ และการทำให้บริสุทธิ์

3.1.2 การเชื่อม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกติน

ในการวิจัยนี้ทำการดัดแปรโครงสร้างของเพกติน 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยหมู่เอสเทอร์สูงกว่าร้อยละ 50 (high methoxyl pectin; HMP) และชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยหมู่เอสเทอร์ต่ำกว่าร้อยละ 50 (low methoxyl pectin; LMP) การเชื่อมต่อ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ กับเพกตินทำได้โดยใช้ EDC ร่วมกับเอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์ (N-hydroxy succinimide หรือ NHS) โดยละลายสารในตัวทำละลายตามลำดับ (ตารางที่ 7) เมื่อสารละลายใสจึงผสมสารละลายเพกตินกับสารละลาย EDC ร่วมกับ NHS จากนั้นเติมสารละลาย DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ พร้อมทั้งคนตลอดเวลาที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตกตะกอนสารผลิตภัณฑ์โดยใช้อะซีโตน ล้างผลิตภัณฑ์ด้วยเททราไฮโดรฟิวแรน เพื่อแยก DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่เหลืออยู่ออก กรองและล้างซ้ำด้วยอะซีโตนและเททราไฮโดรฟิวแรน 2 ครั้ง วางผึ่งที่อุณหภูมิห้องข้ามคืนเพื่อให้สารผลิตภัณฑ์แห้งและตัวทำละลายอินทรีย์ที่คงเหลือระเหยออก จากนั้นละลายสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น บรรจุลงในถุงไดอะไลซิสเพื่อทำการไดอะไลซิสในน้ำกลั่นโดยเปลี่ยนน้ำกลั่นทุก 1 ชั่วโมงจนครบ 4 ชั่วโมง จากนั้นไดอะไลซิสต่อในน้ำกลั่นข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง สารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการไดอะไลซิสแล้วนำไปทำแห้งด้วยวิธีเยือกแข็งภายใต้สุญญากาศ เพกตินทั้งสองชนิดทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกัน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 7 ชนิดสารและตัวทำละลายที่ใช้การเชื่อมโยงข้าม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกติน

สาร	ตัวทำละลาย
เพกติน	สารละลายผสมระหว่างฟอร์มาไมด์และไดเมทิลฟอร์มาไมด์
DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$	ไดเมทิลฟอร์มาไมด์
EDC/NHS	ฟอร์มาไมด์

3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินที่ผ่านการดัดแปรโครงสร้างทางเคมี และการศึกษาการเกิดอันตรกิริยา

การพิสูจน์เอกลักษณ์และการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาโดยวิธีการดังต่อไปนี้

3.2.1. วิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier transform infrared spectroscopy หรือ FT-IR) โดยนำ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินที่ดัดแปรมาบดผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) จนละเอียดเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุลงชุดตอกอัด นำเข้าเครื่องตอกอัดชนิดแรงกดไฮดรอลิก (hydraulic press) ตอกอัดด้วยแรง 5 ตันใช้เวลาอัดนาน 20 วินาที นำ

แผ่นสารตัวอย่างออกจากชุดตอกอัด นำแผ่นตัวอย่างที่ได้ตรึงด้วยชุดตรึงแผ่นตัวอย่าง นำเข้าทดสอบเครื่อง FT-IR ตั้งค่าจำนวนรอบในการสแกน 32 รอบ ช่วงการสแกน 400-4,000 cm^{-1} ช่วงระยะห่างข้อมูล 1.928 cm^{-1} เปรียบเทียบสเปกทรัมของ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินดัดแปรกับสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกติน สภาวะในการวัดด้วยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มเป็นดังนี้

Number of scan	: 32
Resolution	: 4
Data spacing	: 1.928 cm^{-1}
Final format	: % transmittance
Correction	: None
Background handling	: Collect background before every sample

3.2.2 วิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมทรี (differential scanning calorimetry หรือ DSC) การทดสอบตัวอย่างโดยใช้ภาชนะบรรจุและฝาปิด 2 ชุด สำหรับสารตัวอย่างและสำหรับตำแหน่งอ้างอิง ชั่งสารตัวอย่างให้ได้น้ำหนักประมาณ 2-3 มิลลิกรัมตอกอัดปิดฝาภาชนะบรรจุก่อนนำเข้าเครื่อง DSC ตั้งค่าอุณหภูมิทดสอบในช่วงสภาวะในการวัดตัวอย่างดังนี้

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ชนิดภาชนะบรรจุ	: อะลูมิเนียมชนิดทดสอบกับสารที่เป็นของแข็ง
น้ำหนักสารตัวอย่าง	: 2 กรัม
ช่วงอุณหภูมิทดสอบ	
อุณหภูมิเริ่มต้น	: 30 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิสิ้นสุด	: 250 องศาเซลเซียส
อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ	: 10 องศาเซลเซียสต่อนาที

3.2.3 วิธีกล้องจุลทรรศน์ฮอตสเตจ (hot stage microscopy) เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสารตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจโดยวางสารตัวอย่างลงบนแผ่นสไลด์เกลี่ยให้บางเสมอกันทั้งแผ่นตั้งค่าสภาวะการทำงานดังนี้

อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ	: 2 องศาเซลเซียสต่อนาที
ช่วงอุณหภูมิทดสอบ	
อุณหภูมิเริ่มต้น	: 30 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิสิ้นสุด	: 250 องศาเซลเซียส
ความถี่ในการบันทึกภาพ	
ระยะเริ่มทดสอบ	: 1 ภาพต่อ 5 นาที

ระยะเริ่มเปลี่ยนแปลง : 1 ภาพต่อ 1 นาที

3.2.4 วิธีสเปกโทรสโกปีชนิดนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (nuclear magnetic resonance spectroscopy หรือ NMR) โดยการละลายสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการดัดแปร ตัวอย่างละ 10 มิลลิกรัมในตัวทำละลายที่ผ่านการแทนที่โปรตอนด้วยดิวเทอเรียม (deuterated solvents) เลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการวัด เมื่อละลายดีแล้วใช้ พลาสเตอร์ปิเปต ดูดสารละลายใส่ลงไปในหลอดสำหรับนำเข้าเครื่องวิเคราะห์ด้วยวิธีโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์และคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ แปลผลเปรียบเทียบสเปกทรัมของเพกติน ที่ผ่านการดัดแปรกับสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินและกรดดีออกซีโคลิก

3.2.5 ทดสอบและวิเคราะห์หาปริมาณของกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิลเอสเทอร์ และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในโมเลกุลของเพกติน โดยอ้างอิงวิธีการวิเคราะห์จากเภสัชตำรับ ประเทศสหรัฐอเมริกา (United State Pharmacopiea; USP) ฉบับที่ 31 ดังนี้

วิเคราะห์ปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก โดยวิธีวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจากวิธีใน USP โดยคำนวณปริมาตร 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการ ไทเทรตทั้งหมดเทียบเท่ากับกรดกาแลกทูโรนิก ($C_6H_{10}O_7$) น้ำหนัก 99.07 มิลลิกรัม

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิเคราะห์ปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจากวิธีใน USP ดังนี้ ชั่งเพกติน 200 มิลลิกรัม บันทึกค่าน้ำหนัก ละลายผงเพกตินด้วยน้ำกลั่นปราศจาก คาร์บอนไดออกไซด์ คนจนสังเกตว่าเพกตินละลายหมด หยดฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด เริ่มไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล เมื่อสังเกต สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูจางถาวรโดยไม่เลือนหายไปเมื่อเขย่า บันทึกปริมาตรโซเดียมไฮดรอก ไซด์ที่ใช้ในการไทเทรตเป็นปริมาตรการไทเทรตเริ่มต้น เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอก ไซด์ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล 20 มิลลิลิตร เขย่าตลอดเวลา 15 นาที เติมสารละลายมาตรฐานกรด ไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าจนสีชมพูหายไปหมด ไทเทรต อีกครั้งด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอลจนปรากฏสีชมพู จางแบบถาวร แล้วบันทึกค่าเป็นสพอนนิฟิเคชันไทเทอร์ (saponification titer) และคำนวณปริมาตร 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ที่ใช้ใน ปฏิกิริยาสพอนนิฟิเคชันเทียบเท่ากับหมู่เมทอกซิล ($–OCH_3$) น้ำหนัก 15.52 มิลลิกรัม

3.3 การทดสอบและศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพ

นำเพกตินดัดแปรมาทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพดังนี้

3.3.1 ความเป็นกรดด่างโดยละลายเพกตินดัดแปรด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก วัดค่าความเป็นกรดด่างที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) บันทึกผลเพื่อนำไปเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน

3.3.2 ศักย์ไฟฟ้าซีตา เป็นการวัดประจุที่พื้นผิวด้านนอกของอนุภาค มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์ วัดโดยใช้สารละลายตัวอย่างเพกตินความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก คนสารละลายข้ามคืนนำสารละลายมาวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาโดยใช้สภาวะดังนี้

สภาวะอุณหภูมิ	: 25 องศาเซลเซียส
ความละเอียดในการวัด	: สูงสุด
จำนวนรอบ	: 30 รอบ

แสดงผลค่าเฉลี่ยจากการวัด 30 ครั้งและค่าความเบี่ยงเบนของข้อมูล บันทึกข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร

3.3.3 แรงตึงผิว (surface tension) ด้วยเครื่องวิเคราะห์รูปร่างของหยดของเหลว (drop shape analyzer) โดยใช้สารละลายเพกติน ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักซึ่งเตรียมโดยละลายเพกตินในน้ำกลั่นและคนสารละลายข้ามคืนจนได้สารละลายใส นำมาวัดค่าแรงตึงผิว

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ขนาดเข็มตัวอย่าง	: เบอร์ 18
สภาวะอุณหภูมิ	: 25 องศาเซลเซียส
ความเร็วหยดสารละลาย	: 0.5 มิลลิลิตรต่อวินาที

เทียบมาตรฐานโดยใช้น้ำกลั่น วัดแรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน

3.3.4 ขนาดและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (size and size distribution) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคที่ทำงานโดยอาศัยหลักการการกระเจิงลำแสงเลเซอร์โดยใช้สารละลายเพกติน ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักซึ่งเตรียมโดยละลายเพกตินในน้ำกลั่นและคนสารละลายข้ามคืน จนได้สารละลายใส นำมาวัดที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เลือกการวัดแบบใช้แฟรกชันเซลล์ (fraction cell) ใส่น้ำกลั่นลงไปในแฟรกชันเซลล์ปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องวิเคราะห์เพื่อปรับมาตรฐาน ตรวจสอบค่าที่เครื่องวัดได้โดยต้องไม่มีอนุภาคอื่นใดปรากฏ ปิเปตสารละลายเพกตินปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในแฟรกชันเซลล์ เปิดเครื่องกวนสารภายในเครื่องวัด วัดขนาดและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค บันทึกข้อมูล

3.3.5 สัณฐานวิทยา (morphology) ของอนุภาค

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope หรือ TEM) โดยนำเพกตินดัดแปรละลายในน้ำกลั่น ใช้กระดาษกรองชุบ

สารละลายเพกตินแตะลงบนแผ่นกริดทองแดง (copper grid) วางทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำไปถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope หรือ SEM) โดยนำเพกตินติดลงบนแท่นทองเหลืองทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร นำเข้าเครื่องเคลือบสุญญากาศเลือกใช้สารแพลตทินัมในการเคลือบ หลังเคลือบเสร็จนำมาถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม (atomic force microscope หรือ AFM) โดยนำเพกตินละลายด้วยน้ำกลั่น หยดลงบนแผ่นไมกา (mica) ศึกษาลักษณะอนุภาคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม

3.3.6 ลักษณะความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) โดยวัดลักษณะความไม่ชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นโดยใช้สารที่มีความวาวแสงซึ่งมีสมบัติไม่ชอบน้ำ ไม่สามารถละลายได้ในน้ำกลั่นซึ่งในการศึกษานี้ใช้ไนล์เรด (nile red) มาทดสอบ วิธีการศึกษาคือละลายสารวาวแสงพร้อมกับน้ำกลั่นและสารตัวอย่างเพกติน เขย่าจนเข้ากัน วัดค่าการวาวแสงโดยใช้สเปกโทรฟลูออโรโฟโตมิเตอร์ (spectrofluorophotometer) เปรียบเทียบเทียบค่าการวาวแสงที่วัดได้ระหว่างสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรโดยมีน้ำกลั่นผสมสารวาวแสงเป็นสารละลายควบคุมโดยใช้สภาวะการทดสอบดังนี้

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Spectrum type	: Emission
Excited scanning range	: 300 – 900 nm
Emission scanning range	: 550 – 700 nm
Scan speed	: medium
Ordinate upper	: 1,000
lower	: 0

3.3.7 ความเสถียรของเพกตินดัดแปร โดยทำการทดสอบความเสถียรของเพกตินในสภาวะเก็บที่อุณหภูมิห้องและศึกษาความเสถียรของพันธะเอไมด์ในเพกตินดัดแปรโดยการใช้วิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มของเพกตินดัดแปรเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน

สรุปวิธีการที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรโครงสร้างทางเคมี การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์ และทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพ ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สรุปวิธีการที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ ศึกษาการเกิดอันตรกิริยาและทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีกายภาพของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินดัดแปร

วิธีการศึกษา	สารตัวอย่าง	
	DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$	เพกตินดัดแปร
อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier transform infrared spectroscopy; FT-IR)	✓	✓
วิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรี (Differential scanning calorimetry; DSC)	✓	✓
สเปกโทรสโกปีชนิดโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy; ^{1}HNMR)	✓	✓
สเปกโทรสโกปีชนิดคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Carbon nuclear magnetic resonance spectroscopy; ^{13}CNMR)	✓	---
วิเคราะห์หาปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิลเอสเทอร์และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ	---	✓
ทดสอบค่าความเป็นกรดด่าง	---	✓
วัดศักย์ไฟฟ้าซีตา	---	✓
วัดค่าแรงตึงผิว	---	✓
วัดขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค	---	✓
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy; TEM)	---	✓
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)	---	✓
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอม (Atomic force microscope; AFM)	---	✓
ศึกษาลักษณะความไม่ชอบน้ำโดยวิธีสเปกโทรฟลูออโรโฟโตมิเตอร์ (Spectrofluorophotometer)	---	✓

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 4
ผลและอภิปรายผลของการศึกษา

1. การดัดแปรโครงสร้างของเพกตินและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร

1.1 การเตรียมเอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์ (DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$)

การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีในขั้นตอนการเตรียม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ (ภาพที่ 50) ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเคมีเริ่มจากใช้ EDC ซึ่งเป็นสารช่วยให้เกิดปฏิกิริยาเชื่อมต่อระหว่างกรดดีออกซีโคลิกและเอทิลีนไดเอมีนโดย EDC ไปทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิกของกรดดีออกซีโคลิกและเกิดเป็นสารมัธยันตร์เอซิลไอโซยูเรีย ซึ่งสารมัธยันตร์นี้มีความไวสูงที่จะเกิดปฏิกิริยาต่อไป เมื่อเติมเอทิลีนไดเอมีนไนโตรเจนของเอทิลีนไดเอมีนจะเข้าแทนที่ออกซิเจนของหมู่ฟังก์ชันเอสเทอร์ของสารมัธยันตร์ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ปนมากับสารพลอยได้ไอโซยูเรียซึ่งสารพลอยได้นี้ละลายน้ำได้จึงสามารถแยกสารพลอยได้ออกโดยละลายสารผลิตภัณฑ์ในคลอโรฟอร์มแล้วสกัดล้างสารด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง หลังการระเหยตัวทำละลายโดยลดความดันได้สารผลิตภัณฑ์ผงสีขาวใสลักษณะเป็นเกล็ดเล็กๆ หลังจากนั้นทำให้ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีโดยใช้วัฏภาคคงที่เป็นซิลิกาเจลและวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 1:9 ได้ผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ สุดท้ายหลังการทำให้บริสุทธิ์ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

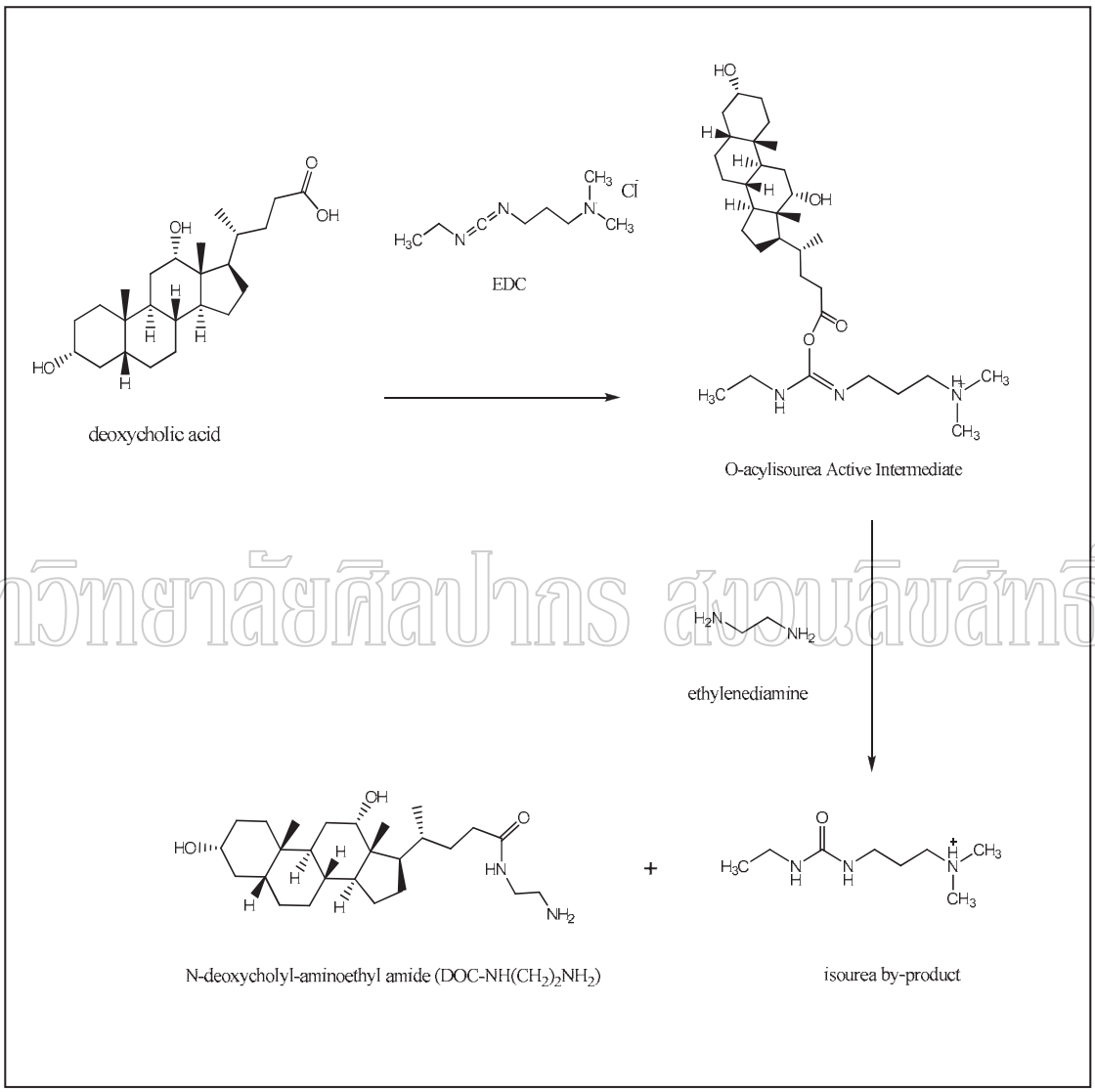
หลังผ่านกระบวนการทำให้สารบริสุทธิ์ได้สารลักษณะผงสีขาวนำไปทดสอบสมบัติทางเคมีกายภาพ พบว่าสารที่ได้สามารถละลายได้ดีในตัวละลายอินทรีย์ชนิดคลอโรฟอร์ม เมื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารตัวอย่าง DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ โดยวิธีรงคเลขผิวบาง ที่มีวัฏภาคคงที่เป็นซิลิกาและวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นสารผสมระหว่างเมทานอลและคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 1:9 นำสารตัวอย่างมาละลายด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่พบว่าค่าระยะในการเคลื่อนที่เมื่อปรากฏหมู่อะมิโนเอทิลเอไมด์สูงขึ้นและหาค่าอัตราในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง (retention factor, R_f) ได้จากสูตรการคำนวณดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้น (เซนติเมตร)}}{\text{ระยะทางที่วัฏภาคเคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้น (เซนติเมตร)}}$$

เมื่อนำระยะทางที่วัดได้จากแผ่นรงคเลขมาคำนวณด้วยสูตรข้างต้นพบว่า

ค่า R_f ของกรดดีออกซีโคลิก = (3.5/8.5) = 0.41

ค่า R_f ของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ = (4.5/8.5) = 0.53

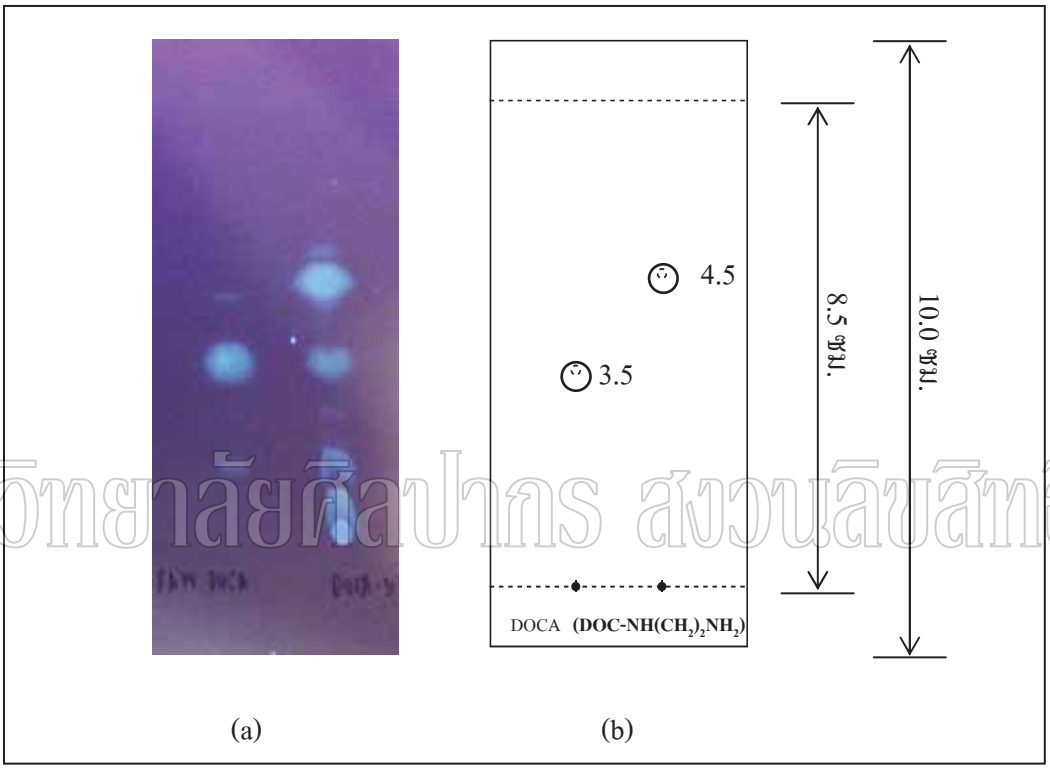


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 50 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาในการเตรียม DOC-NH$(CH_2)_2$NH

เมื่อเทียบกับสารตั้งต้นกรดดีออกซีโคลิกมีค่า R_f เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากสารผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ มีความเป็นขั้วลดลงจากการมีหมู่อะมิโนเอทิลทำให้สารเคลื่อนที่ไปกับคลอโรฟอร์มได้ดีขึ้นและเกิดการจับไว้ในวัฏภาคคงที่ได้น้อยลง แผ่นรงคเลขผิวบางที่มีวัฏภาคคงที่

เป็นซิลิกามีกลไกในการแยกสารแบบดูดซับตามสมบัติความมีขั้วซึ่งกรดดีออกซีโคลิกมีส่วนประกอบเป็นหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิกความมีขั้วสูงเกิดอันตรกิริยากับหมู่ไซลานอลในซิลิกาและถูกดูดซับบนแผ่นซิลิกาได้ดีจึงเคลื่อนที่ไปได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ซึ่งมีขั้วต่ำกว่าและละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ดีกว่าจึงเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่า ภาพที่ 51 แสดงตัวอย่างลักษณะการวาวแสงภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตและระยะทางที่สารเคลื่อนที่



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

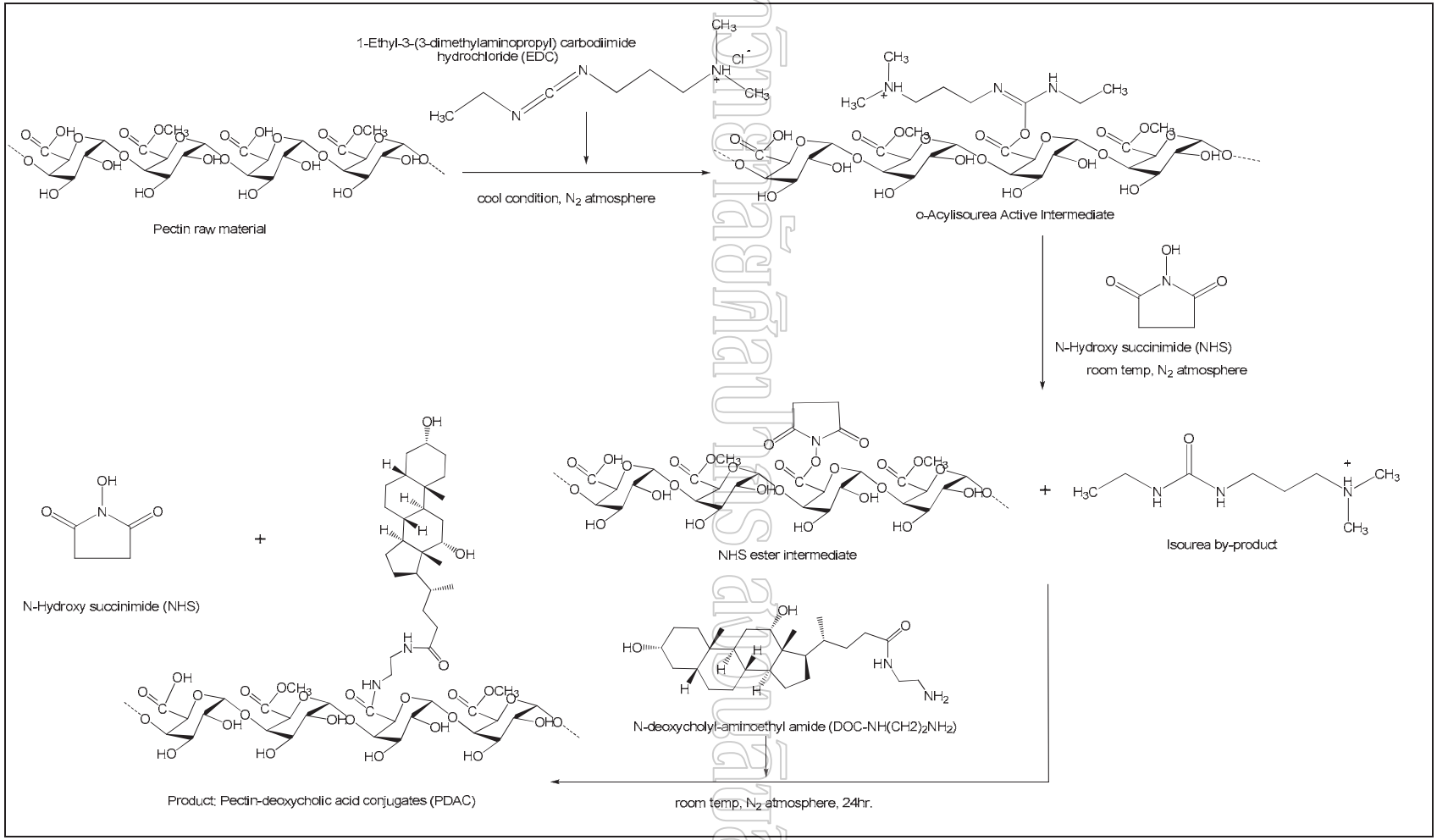
ภาพที่ 51 ภาพถ่ายแผ่นรงคเลขผิวบางปรากฏจุดวาวแสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 352 นาโนเมตรและภาพเขียนจำลองขนาดและระยะทางที่สารตัวอย่างเดินทางบนแผ่นวัฏภาคคงที่; (a) กรดดีออกซีโคลิก (ซ้าย) และ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ (ขวา) และ (b) ภาพเขียนจำลองขนาดและระยะทางที่สารตัวอย่างเดินทางในวัฏภาคคงที่

จุดวาวแสงปรากฏหลังพ่นแผ่นรงคเลขผิวบางด้วยรีเอเจนต์ที่เตรียมจากกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 85 ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งเป็นรีเอเจนต์เฉพาะสำหรับตรวจหากรดน้ำดี หลังฉีดพ่นรีเอเจนต์นำแผ่นรงคเลขเข้าอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สังเกตเห็นจุดสีเขียวเหลืองปรากฏบนแผ่น นำแผ่นที่ผ่านการพัฒนาและอบมาส่องดูในตู้หลอดไฟแสงอัลตราไวโอเลต

1.2 การเชื่อม DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกติน

นำหมู่อะมิโนอิสระของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ มาเชื่อมต่อกับเพกตินที่ตำแหน่งหมู่กรดคาร์บอกซิลิกผ่านการสร้างพันธะเอไมด์ การเชื่อมเกิดผ่านปฏิกิริยาเคมีโดยอาศัย EDC เป็นสารช่วยให้เกิดปฏิกิริยาที่หมู่คาร์บอกซิลร่วมกับ NHS จากนั้นจึงทำการแทนที่ตำแหน่งเอสเทอร์ด้วย DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ สารนี้มีปลายด้านหนึ่งเป็นเอมีนซึ่งจะเกิดพันธะเอไมด์กับเพกตินที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลิกโดยไปแทนที่กลุ่ม NHS ลำดับการเกิดปฏิกิริยาโดยสังเขปเป็นดังภาพที่ 52 ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเกิดสารพลอยได้จากปฏิกิริยา คือไอโซยูเรีย ซึ่งละลายอยู่ภายในตัวทำละลาย

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

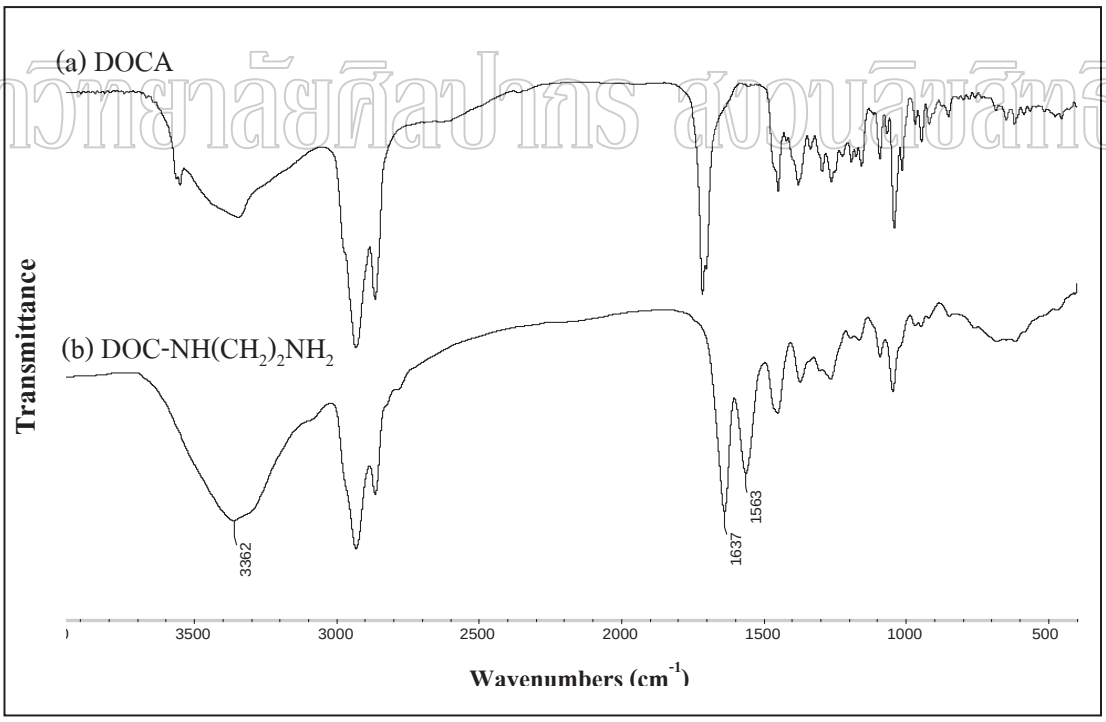


ภาพที่ 52 ปฏิกิริยาการเตรียมเพกตินเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก (pectin-deoxycholic acid conjugates; PDAC)

1.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และเพกตินดัดแปร และการศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกรดดีออกซีโคลิกและเอทิลีนไดเอมีนและเพกตินกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$

1.3.1 วิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม

ภาพที่ 53 เปรียบเทียบสเปกทรัมของกรดดีออกซีโคลิกและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์จากกรดดีออกซีโคลิกที่หมู่คาร์บอกซิลิกถูกดัดแปรเป็นหมู่เอมีนซึ่งปรากฏพันธะเอไมด์แสดงที่ตำแหน่งเลขคลื่น 1,637 cm^{-1} แสดงถึงการสั่นแบบยืดขยายของพันธะคาร์บอนิล (C=O stretching) ของพันธะเอไมด์ และพีกแสดงการสั่นแบบยืดขยายของพันธะระหว่างไนโตรเจนและไฮโดรเจน (N-H stretching) ที่ตำแหน่งเลขคลื่น 3,362 cm^{-1} และเกิดพีกจากการสั่นแบบโค้งงอของพันธะระหว่างไนโตรเจนและไฮโดรเจน (N-H bending) ที่ตำแหน่งเลขคลื่น 1,563 cm^{-1} (Tang et al. 2010 : 1599-1609; Hu et al. 2008 : 220-227) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเส้นสเปกทรัมของสารผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ กับสารตั้งต้นกรดดีออกซีโคลิกพบความแตกต่างที่เลขคลื่นดังกล่าวอย่างชัดเจน ซึ่งตำแหน่งอื่นๆ ยังคงเอกลักษณ์เดิมของกรดดีออกซีโคลิก



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 53 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของ DOCA และDOC-NH$(CH_2)_2NH_2$; (a) DOCA และ (b) DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$

จากข้อมูลที่มีผู้ศึกษาฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของเพกติน พบพันธะที่เกี่ยวข้องปรากฏพีกที่ตำแหน่งดังต่อไปนี้ การยืดขยายของหมู่ไฮดรอกซิลพบพีกที่ประมาณ 3,400 cm^{-1} การสั่นแบบยืดขยายของคาร์บอนและไฮโดรเจน (C-H) ในหมู่ CH_2 พบพีกที่ประมาณ 2,900 cm^{-1} การสั่นแบบยืดขยายของคาร์บอนิล (C=O) พบพีกที่ประมาณ 1,610 cm^{-1} การสั่นแบบยืดขยายของคาร์บอนิล (C=O) หมู่เมทิลเอสเทอร์ที่ประมาณ 1,740 cm^{-1} พันธะอัลฟาไกลโคซิดิกที่ประมาณ 830 cm^{-1} (Tamaki et al. 2004 : 19-25) (Hu et al., 2008 : 220-227)

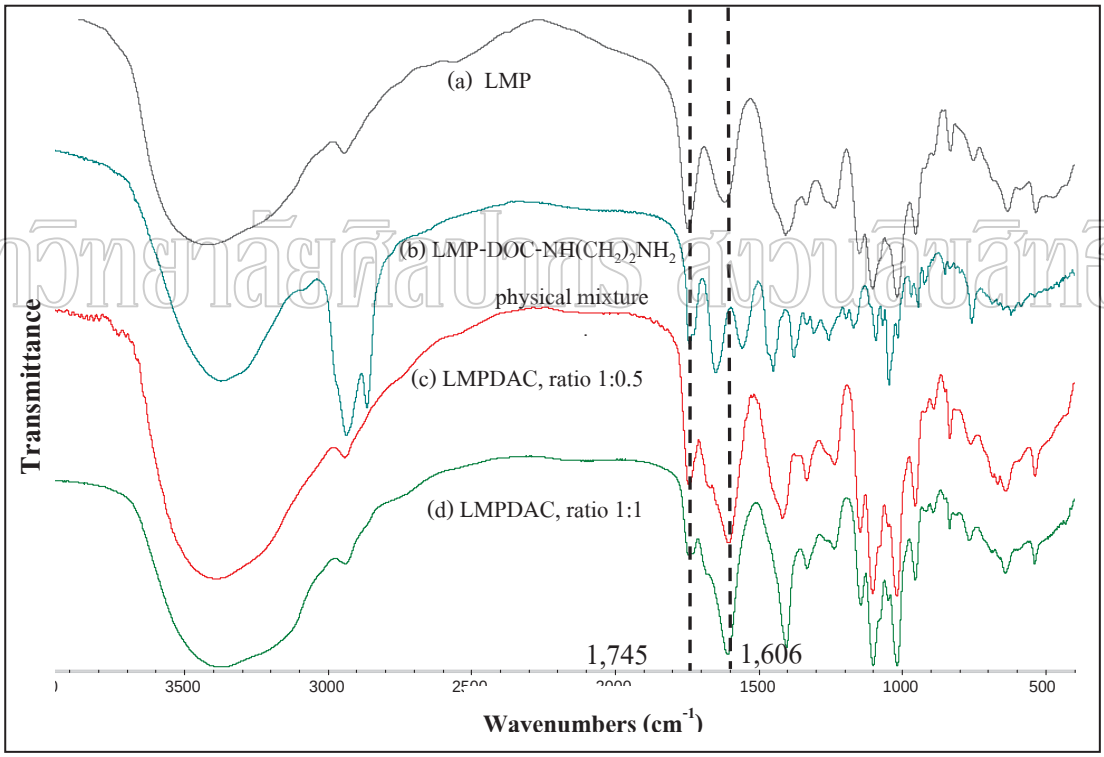
จากภาพที่ 54 และ 55 พบว่าฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของเพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิกปรากฏพีกที่ตำแหน่งประมาณ 1,530-1,680 cm^{-1} พีกที่ปรากฏกว้างและเบ้มาทาง 1,500 cm^{-1} อย่างชัดเจน เมื่อเทียบกับสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกติน พีกที่ปรากฏนี้มาจากการปรากฏของหมู่เอไมด์ที่ตำแหน่ง 1,563 cm^{-1} มากกว่าการเกิดจากรูปแบบของคาร์บอกซิเลตซึ่งจะให้สัญญาณที่ตำแหน่ง 1,630-1,650 cm^{-1} กว้างขึ้นเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นเพกตินและจากอัตราการเข้าทำปฏิกิริยาสังเกตเบื้องต้นจากอัตราส่วนระหว่างพีกที่ตำแหน่ง 1,745 cm^{-1} กับ 1,606 cm^{-1} เมื่อนำมาเปรียบเทียบระหว่างอัตราส่วนโมลที่ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ เข้าทำปฏิกิริยากับกรดกาแลกทูโรนิกบนสายหลักของเพกตินในอัตราส่วนโมล 1:0.5 และอัตราส่วน 1:1 พบว่าเมื่อเพิ่มสัดส่วนสารที่เข้าทำปฏิกิริยามากขึ้นการเข้าจับกันที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลิกอิสระเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนซึ่งแสดงว่าอัตราส่วนการเข้าเชื่อมต่อระหว่าง 2 โมเลกุลขึ้นกับจำนวนโมเลกุลของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาเช่นกัน เพกตินดัดแปรทั้งสองชนิดปรากฏพีกในลักษณะเดียวกันและตำแหน่งใกล้เคียงกันแต่ค่าความเข้มของพีกแตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

การเปรียบเทียบความสูงของพีกที่ตำแหน่ง C=O ซึ่งแสดงถึงหมู่คาร์บอนิลของคาร์บอกซิลิก (1,606 cm^{-1}) และตำแหน่ง C=O (1,745 cm^{-1}) ของเมทิลเอสเทอร์ระหว่างเพกตินที่มีอัตราส่วนโมลของ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ ต่อโมลเพกติน 1:0.5 และ 1:1 โดยใช้วิธีคำนวณความสูงของพีกที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบอัตราส่วนที่ตำแหน่ง 1,606 cm^{-1} วัดค่าจากระหว่างช่วง 1,530-1,700 cm^{-1} และที่ตำแหน่ง 1,745 cm^{-1} ซึ่งวัดค่าจากช่วง 1,700-1,800 cm^{-1} เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนโมลของ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ กับเพกตินและปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระที่ลดลงแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่ง 1,606 และ 1,745 cm^{-1}

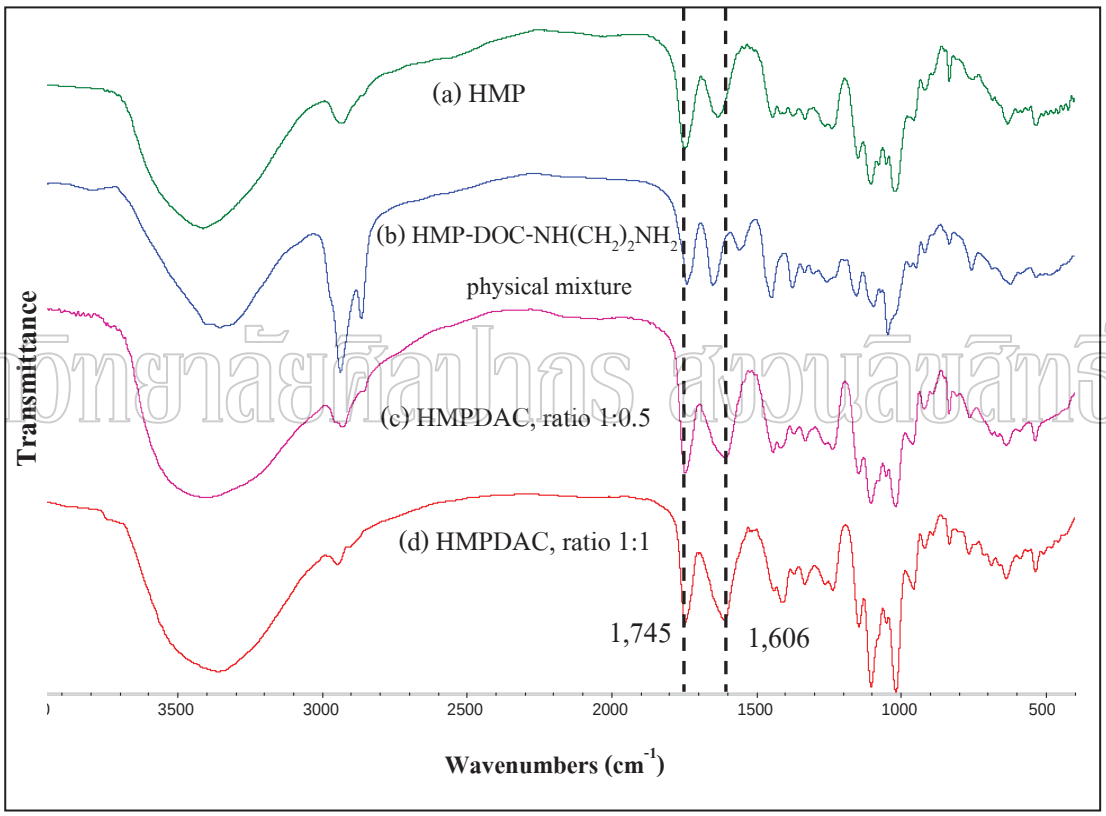
ชนิดเพกติน	อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่ง (1,606/1,745)
HMPDAC อัตราส่วน 1:0.5	0.707
HMPDAC อัตราส่วน 1:1	0.886
LMPDAC อัตราส่วน 1:0.5	1.548
LMPDAC อัตราส่วน 1:1	5.164



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 54 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMP; (a) เพกตินชนิด LMP, (b) สารที่ได้จากการผสมด้วยวิธีบดผสมทางกายภาพโดยตรงระหว่าง DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ กับเพกตินชนิด LMP, (c) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ (d) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1

ข้อมูลเชิงเปรียบเทียบความสัมพันธ์ในตารางที่ 9 บอกถึงการปรับสัดส่วนจำนวนโมลของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ในการเข้าทำปฏิกิริยากับเพกตินชนิด HMP สามารถเพิ่มอัตราการเข้าแทนที่ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับเพกตินชนิด LMP ข้อจำกัดในการเข้าทำปฏิกิริยาของเพกตินชนิด HMP อาจเกิดจากผลสเตอริก (steric effect) กล่าวคือการกีดขวางจากหมู่เมทิลเอสเทอร์เดิมในโครงสร้างและเพกตินชนิด HMP มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200,000 ดาลตัน ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้ส่งผลให้การเข้าทำปฏิกิริยายากกว่าเพกตินชนิด LMP ซึ่งมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 70,000 ดาลตันและหมู่เมทิลเอสเทอร์เดิมที่น้อยกว่า



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

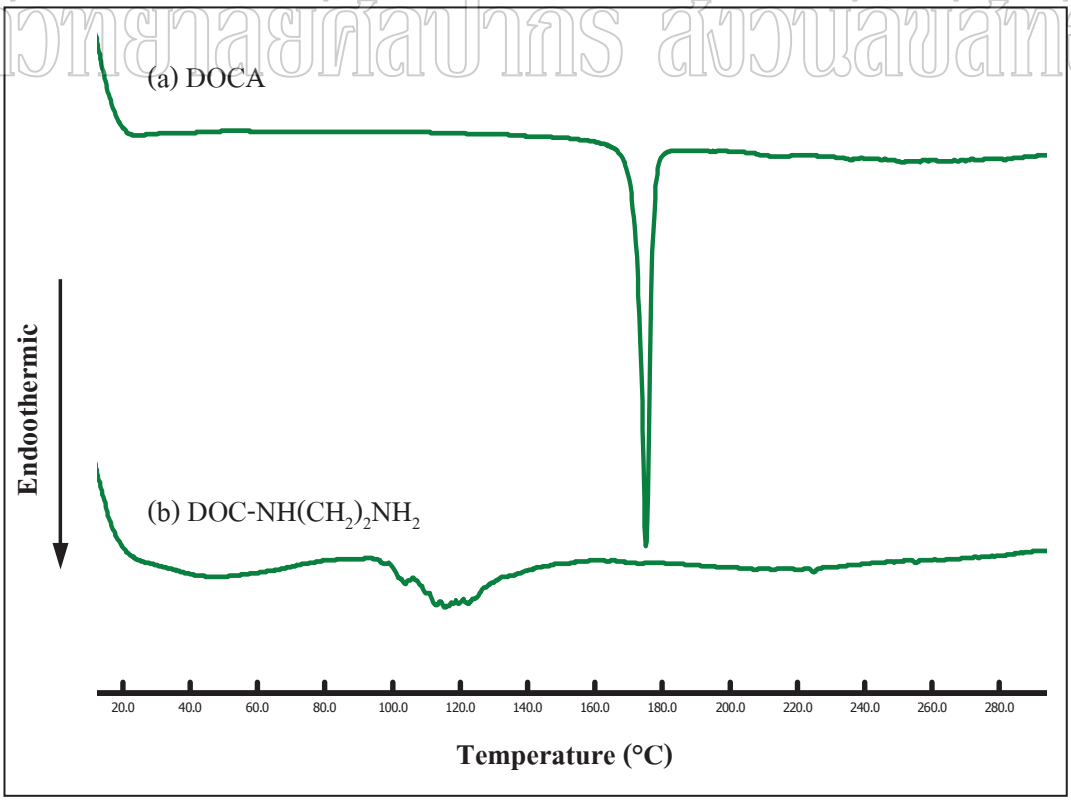
ภาพที่ 55 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC; (a) เพกตินชนิด HMP (b) สารที่ได้จากการผสมด้วยวิธีบดผสมทางกายภาพโดยตรงระหว่าง DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ กับ เพกตินชนิด HMP (c) เพกตินดัดแปรชนิด HMP อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ (d) เพกตินดัดแปรชนิด HMP อัตราส่วนโมล 1:1

1.3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรี (DSC หรือ ดีเอสซี)

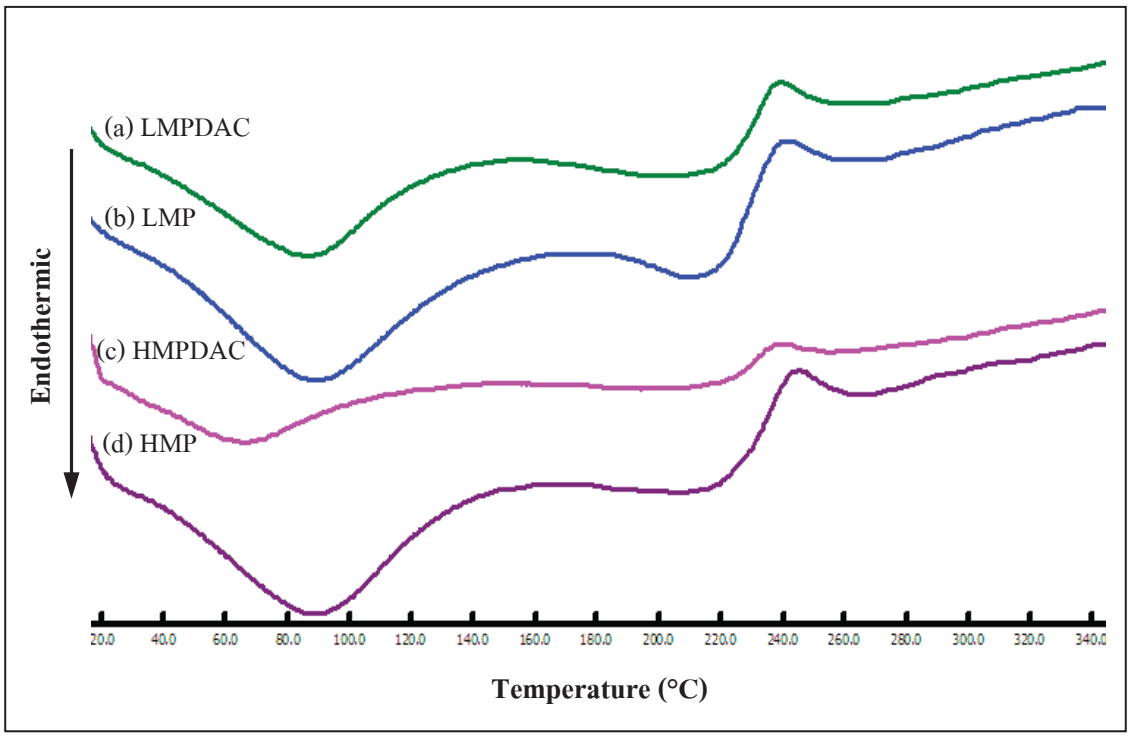
การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ด้วยวิธี DSC ภาพที่ 56 พบว่าเทอร์โมแกรมของสารมาตรฐานกรดดีออกซีโคลิกแสดงพีกเอนโดเทอมิกที่ 175.2 องศาเซลเซียสแสดงถึงจุดหลอมเหลวอันเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารตัวอย่างและเทอร์โมแกรมของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ไม่ปรากฏค่าเอนโดเทอมิกที่ตำแหน่งเดียวกันแสดงว่าสารผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ไม่ปรากฏความเป็นคุณลักษณะเดิมของกรดดีออกซีโคลิก เนื่องจากกรดดีออกซีโคลิกถูกใช้ในการทำปฏิกิริยาจนหมดเกิดเป็นสารใหม่ที่มีสมบัติการหลอมเหลวต่างจากเดิมโดยสังเกตจากพีกเอนโดเทอร์มิกที่เกิดที่อุณหภูมิต่ำลง

สารผลิตภัณฑ์เพกตินที่เชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิกซึ่งทดสอบด้วยวิธี DSC เปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกตินกล่าวคือสเปกทรัมทุกเส้นที่ได้ไม่ปรากฏพีกคุณลักษณะความเป็นกรดดีออกซีโคลิก แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดอันตรกิริยาเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะโควาเลนท์ (ภาพที่ 57)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 56 ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรีเทอร์โมแกรมของ (a) สารมาตรฐานกรดดีออกซีโคลิก (DOCA) และ (b) DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$

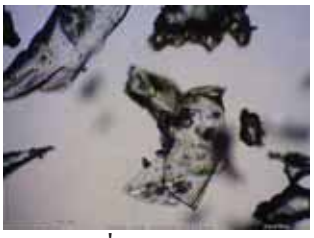
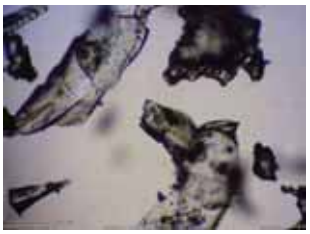
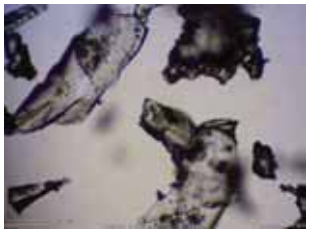
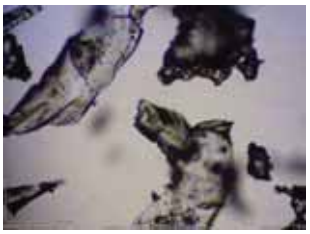
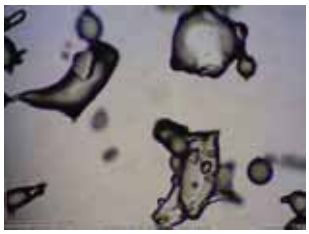
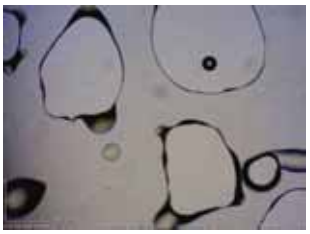


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 57 ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรีเทอร์โมแกรมของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร; (a) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC (b) เพกตินชนิด LMP (c) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และ (d) เพกตินชนิด HMP

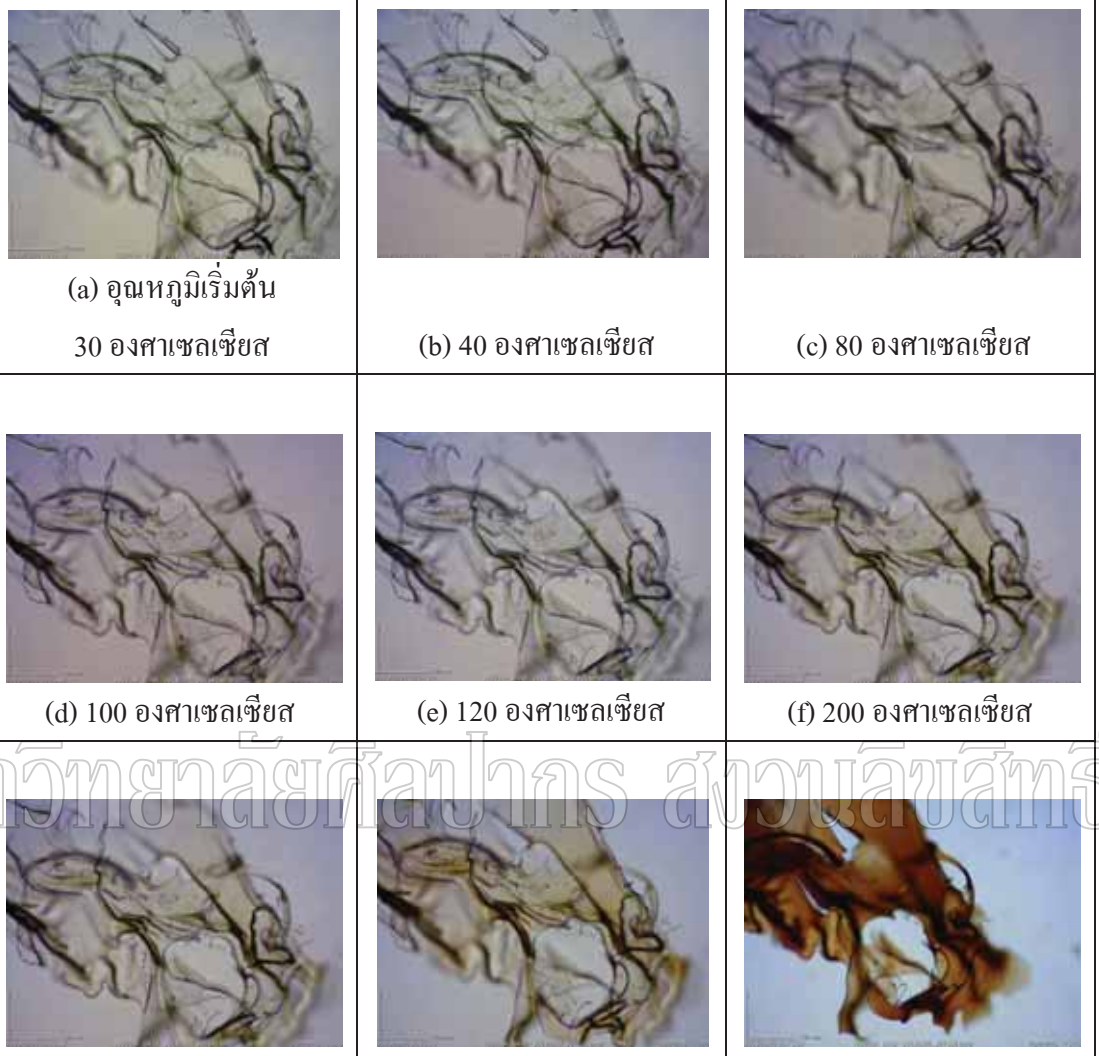
1.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบฮอตสเตจ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจและเก็บภาพเป็นระยะที่อุณหภูมิต่างๆ สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงหรือการเสียสภาพอย่างชัดเจน จากภาพที่ 58 แสดงให้เห็นว่าลักษณะของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เริ่มมีการหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสและหลอมเหลวหมดที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับผลจากวิธี DSC ซึ่งเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ประมาณ 85 องศาเซลเซียสและเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส ยืนยันเอนโดเทอมิกพีกที่เกิดขึ้นจากการหลอมเหลว ในขณะที่สารตั้งต้นเพกตินทั้งสองชนิดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลที่อุณหภูมิประมาณ 200 องศาเซลเซียสและสังเกตเห็นการไหม้อย่างชัดเจนที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 59) สำหรับเพกตินดัดแปรทั้งสองชนิดสังเกตเห็นการเริ่มเปลี่ยนสีที่อุณหภูมิประมาณ 190 องศาเซลเซียสและไหม้จนเกิดควันที่ 220 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 60)

 (a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส	 (b) 40 องศาเซลเซียส
 (c) 50 องศาเซลเซียส	 (d) 70 องศาเซลเซียส
 (e) 80 องศาเซลเซียส	 (f) 85 องศาเซลเซียส
 (g) 90 องศาเซลเซียส	 (h) 95 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 58 ภาพถ่ายลักษณะของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ; (a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส (b) 40 องศาเซลเซียส (c) 50 องศาเซลเซียส (d) 70 องศาเซลเซียส (e) 80 องศาเซลเซียส (f) 85 องศาเซลเซียส (g) 90 องศาเซลเซียสและ (h) 95 องศาเซลเซียส



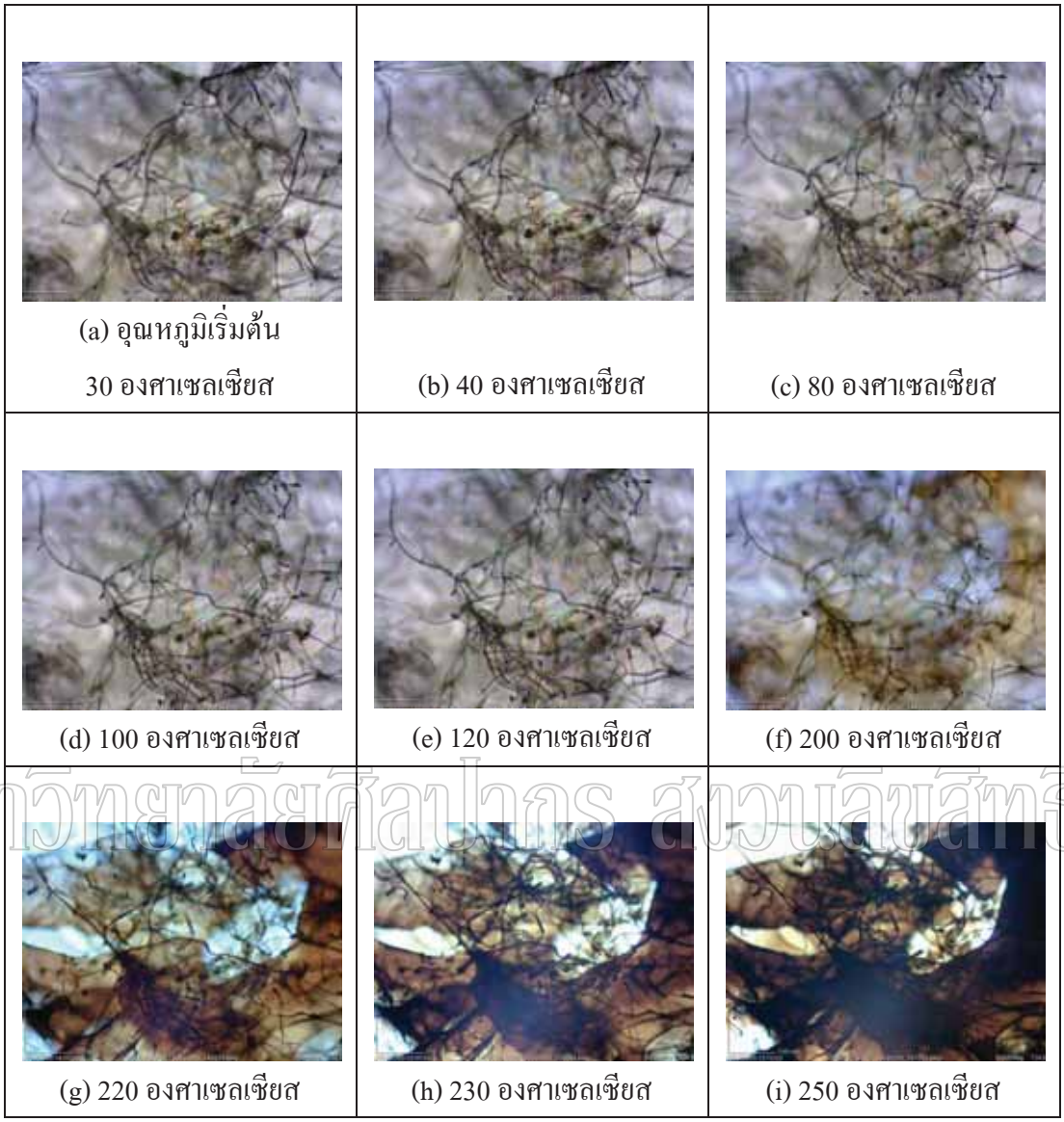
(a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส | (b) 40 องศาเซลเซียส | (c) 80 องศาเซลเซียส

(d) 100 องศาเซลเซียส | (e) 120 องศาเซลเซียส | (f) 200 องศาเซลเซียส

(g) 220 องศาเซลเซียส | (h) 230 องศาเซลเซียส | (i) 250 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 59 ภาพถ่ายลักษณะของเพกตินชนิด HMP ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ; (a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส (b) 40 องศาเซลเซียส (c) 80 องศาเซลเซียส (d) 100 องศาเซลเซียส (e) 120 องศาเซลเซียส (f) 200 องศาเซลเซียส (g) 220 องศาเซลเซียส (h) 230 องศาเซลเซียสและ (i) 250 องศาเซลเซียส



(a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส | (b) 40 องศาเซลเซียส | (c) 80 องศาเซลเซียส

(d) 100 องศาเซลเซียส | (e) 120 องศาเซลเซียส | (f) 200 องศาเซลเซียส

(g) 220 องศาเซลเซียส | (h) 230 องศาเซลเซียส | (i) 250 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

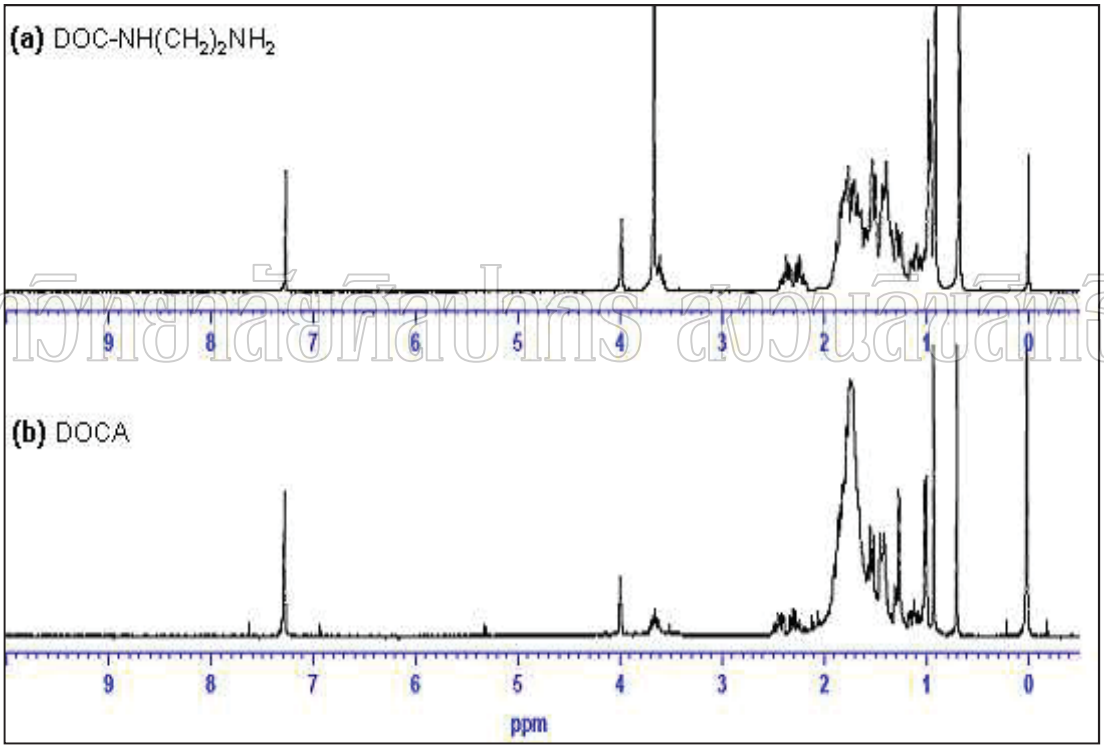
ภาพที่ 60 ภาพถ่ายลักษณะของเพกตินชนิด HMPDAC ที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อกับอุปกรณ์ฮอตสเตจ; (a) อุณหภูมิเริ่มต้น 30 องศาเซลเซียส (b) 40 องศาเซลเซียส (c) 80 องศาเซลเซียส (d) 100 องศาเซลเซียส (e) 120 องศาเซลเซียส (f) 200 องศาเซลเซียส (g) 220 องศาเซลเซียส (h) 230 องศาเซลเซียสและ (i) 250 องศาเซลเซียส

1.3.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีสเปกโทรสโกปีชนิดนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nuclear magnetic resonance spectroscopy หรือ NMR)

สเปกทรัมจากการวัด DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และกรดดีออกซีโคลิก ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (ภาพที่ 61) และเทคนิคคาร์บอนนิวเคลียร์

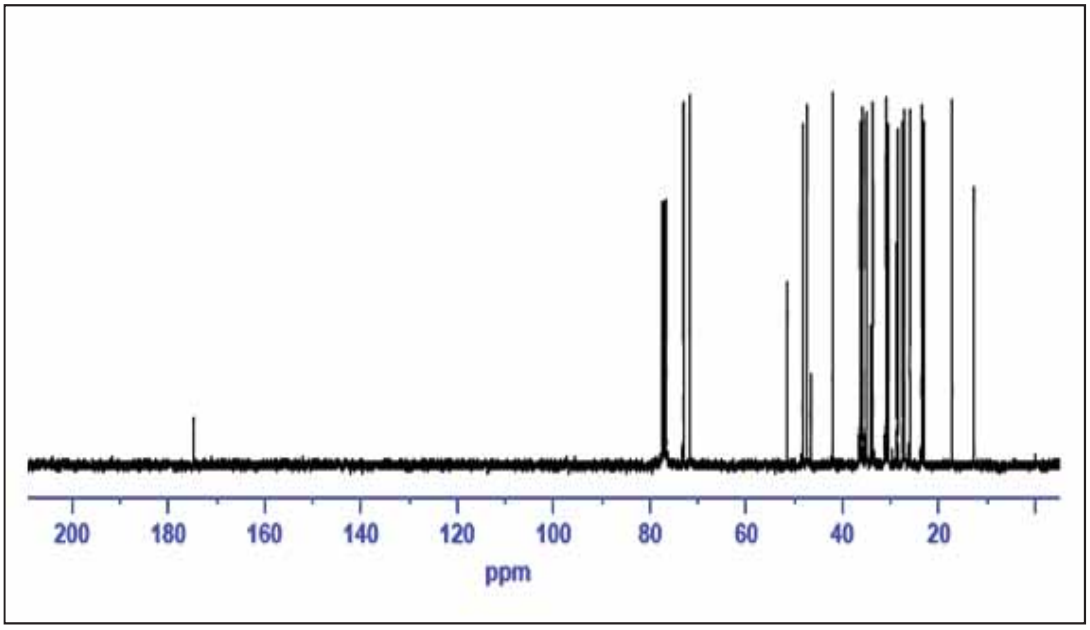
แมกเนติกเรโซแนนซ์ของ DOC-NH$(CH_2)_2$ NH_2 (ภาพที่ 62) แสดงสัญญาณ DOC-NH$(CH_2)_2$ NH_2 ซึ่งมีสัญญาณโปรตอนจำนวน 46 สัญญาณ ซึ่งมาจากกรดดีออกซีโคลิก 39 สัญญาณและเอทิลีนไดเอมีน 7 สัญญาณตำแหน่งที่เพิ่มมาคือประมาณ 3.7 ppm จากเอทิลีนไดเอมีนและแสดงสัญญาณคาร์บอนจำนวน 26 สัญญาณเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากเอทิลีนไดเอมีน

สเปกทรัมโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ของสารตั้งต้นเพกตินกับเพกตินดัดแปรได้ลักษณะสเปกทรัมดังภาพที่ 63 และ 64 โดยใช้สารเททระเมทิลไซเลน (tetramethylsilane หรือ TMS) เป็นสารมาตรฐานและดิวเทอเรตเทตคลอโรฟอร์ม ($CDCl_3$) เป็นตัวทำละลาย



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 61 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และกรดดีออกซีโคลิกใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$; (a) DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และ (b) กรดดีออกซีโคลิก

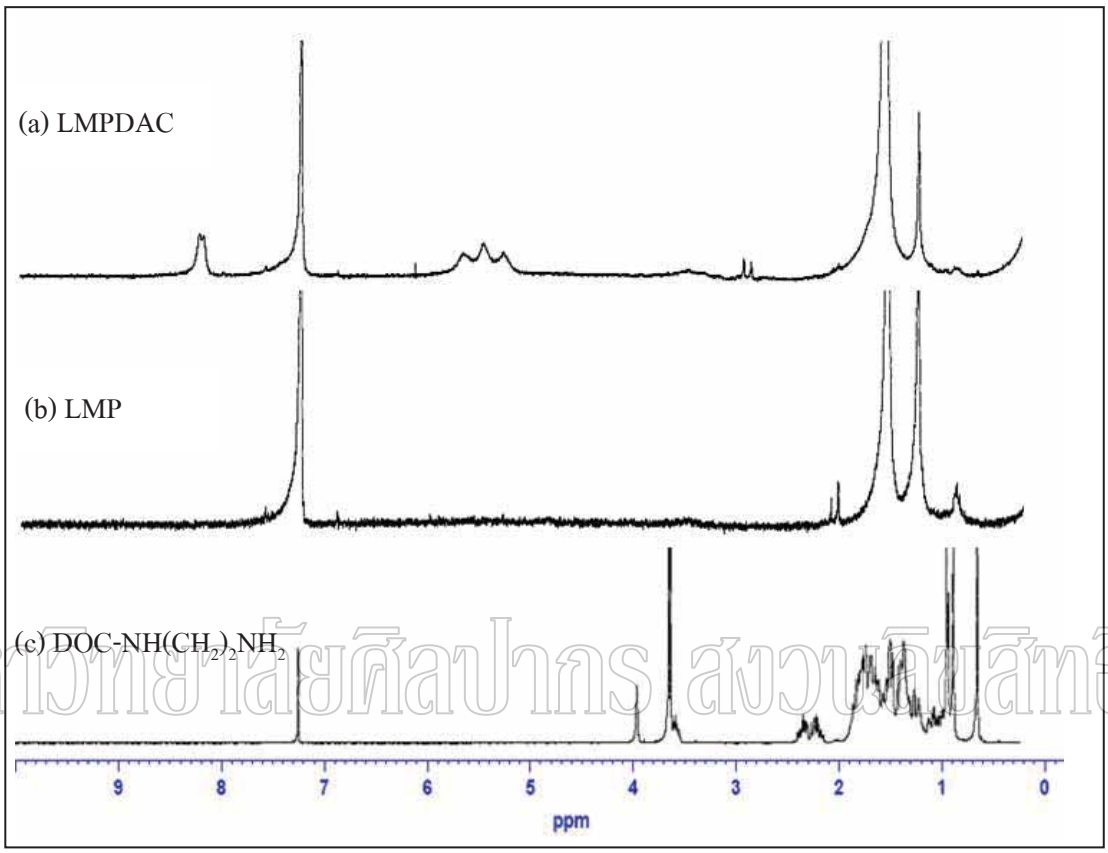


ภาพที่ 62 คาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

จากภาพที่ 63 พบว่าสัญญาณโปรตอนของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ซึ่งสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ปรากฏสัญญาณชัดเจนแต่สารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ปรากฏสัญญาณไม่ชัดเจนเพราะสารตัวอย่างละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ $CDCl_3$ ไม่ดีและเพื่อแสดงให้เห็นถึงสัญญาณที่ชัดเจนขึ้นจึงใช้ตัวทำละลาย D_2O เพื่อให้สามารถเห็นสัญญาณโปรตอนของเพกตินได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้นดังภาพที่ 64 ซึ่งพบสัญญาณโปรตอนที่ตำแหน่ง 0.6-2.5 ppm ซึ่งเป็นตำแหน่งของกรดดีออกซีโคลิก (Hu et al. 2008 : 220-227; Wang et al. 2011 : 1192-1200) และพบความเปลี่ยนแปลงที่พีกเอกลักษณ์ของเพกตินในตำแหน่งโปรตอนของคาร์บอนตัวที่ 5 (H-5) โดยที่เพกตินชนิด LMP จะปรากฏสัญญาณซึ่งแสดงเอกลักษณ์ของเพกตินที่ประมาณ 4.6-4.8 ppm แต่เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC พบพีกดาวน์ฟิลด์ลงมาที่ประมาณ 5 ppm หมายถึงตำแหน่ง H-5 แสดงถึงเอกลักษณ์ของเพกตินเมื่อมีคาร์บอกซิลิกอิสระในตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 5 และหากหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระเปลี่ยนไปจะปรากฏพีกที่ 5 ppm ขึ้นมาชัดเจนซึ่งแสดงว่าคาร์บอกซิลิกอิสระมีการเปลี่ยนแปลง (Burana-osot et al. 2010 : 461-465; Rosenbohm et al. 2003 : 637-649; Tamaki et al. 2004 : 19-25) ส่วนโปรตอนอื่นที่ปรากฏในสารตั้งต้นเพกตินยังคงปรากฏสัญญาณบนเพกตินดัดแปรที่ตำแหน่งใกล้เคียงกันดังตารางที่ 10 โปรตอน

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารผลิตภัณฑ์เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$ แสดงลักษณะคล้ายกับสเปกทรัมของเพกตินชนิด LMP ดังภาพที่ 65



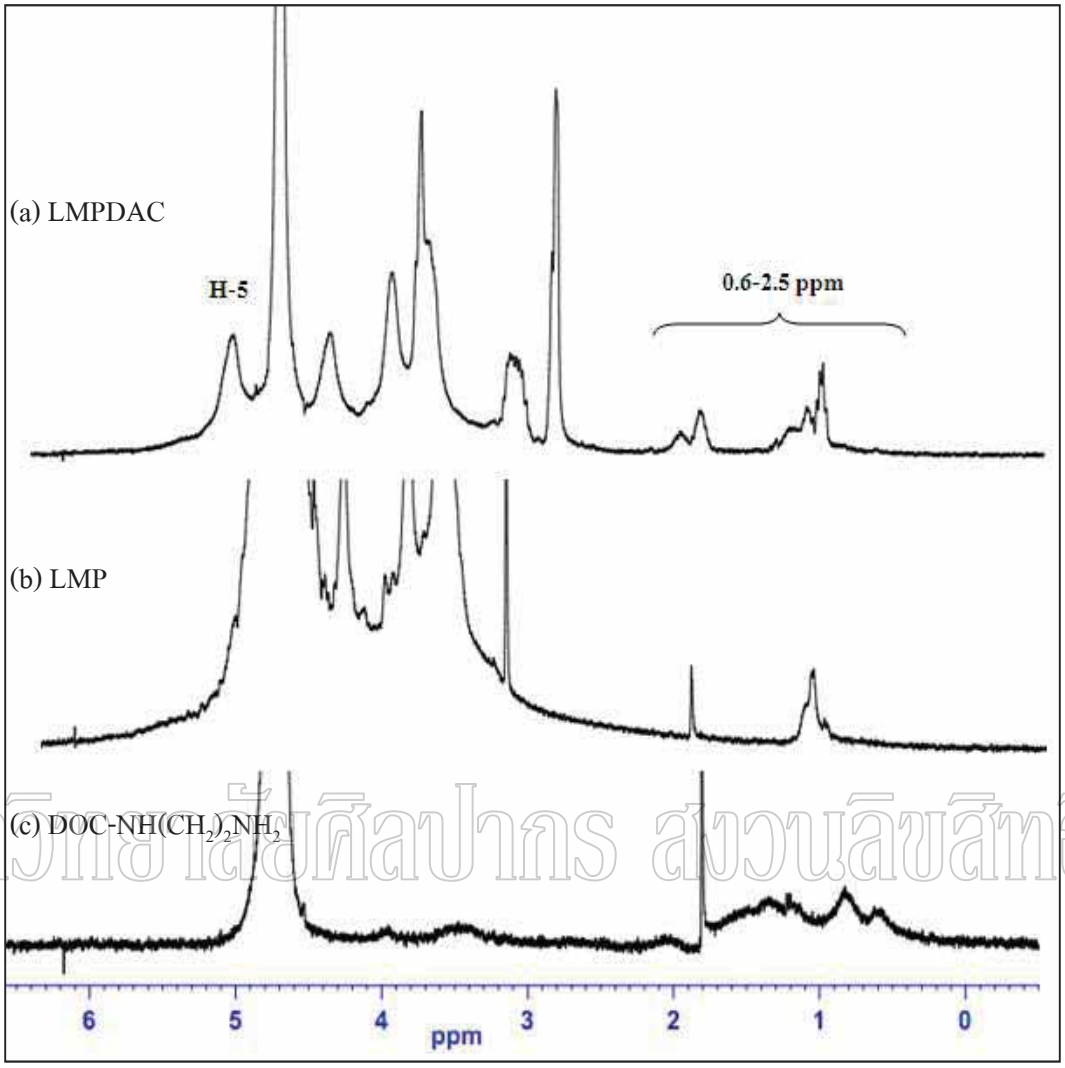
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 63 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิด LMP โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$; (a) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC (b) เพกตินชนิด LMP และ (c) $DOC\text{-}NH(CH_2)_2NH_2$

ตารางที่ 10 แสดงตำแหน่งสัญญาณโปรตอนอ้างอิงของสารมาตรฐานเพกตินชนิด LMP

		^1H Chemical shifts				
Solvent: D_2O		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5
Standard pectin	Galacturonic acid	5.08	3.76	3.96	4.42	4.71

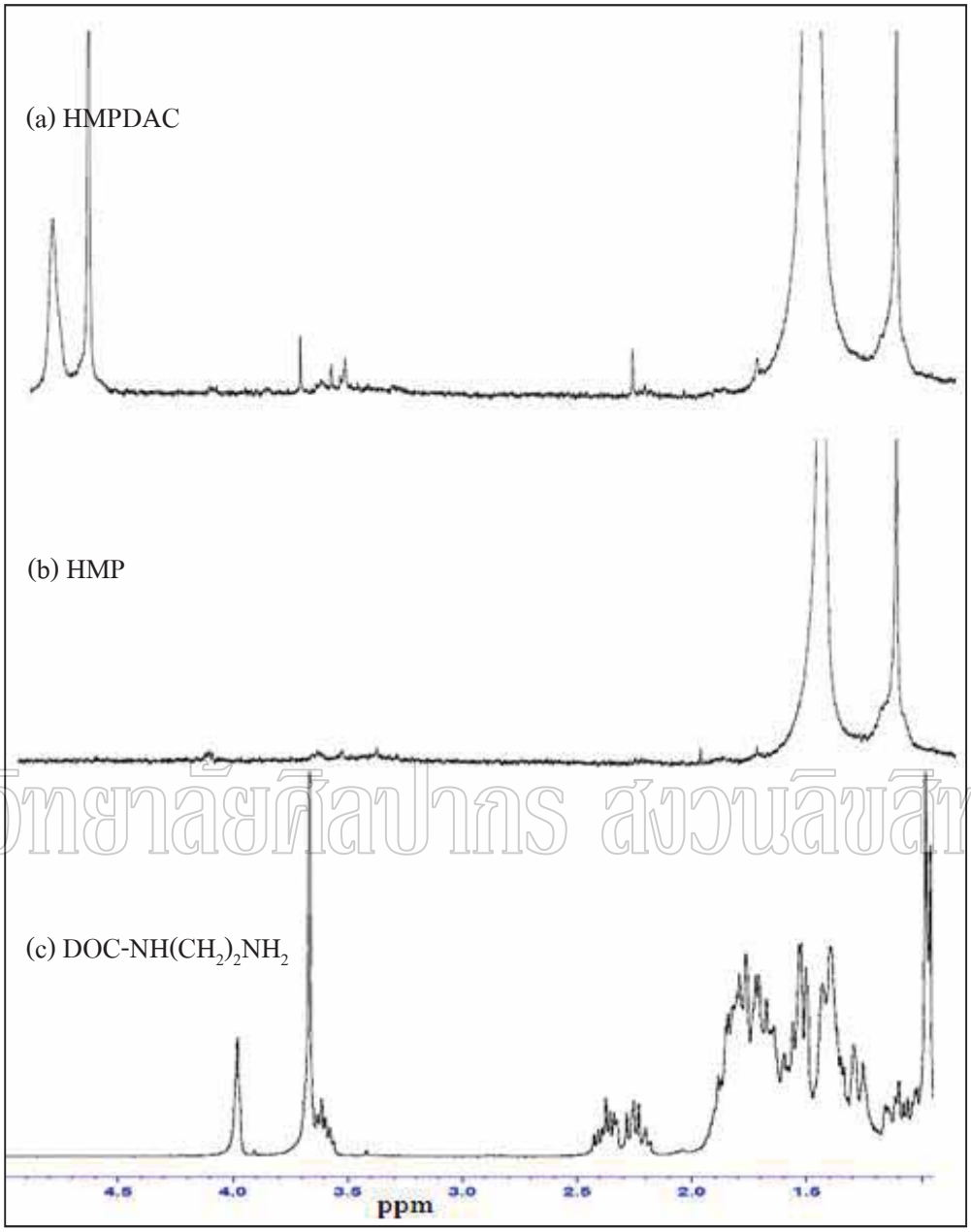
ที่มา : Y. Tamaki et al., “Isolation and characterization of pectin from pericarp of citrus depressa,” Journal of Applied Glycoscience 51 (2004) : 19-25.



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

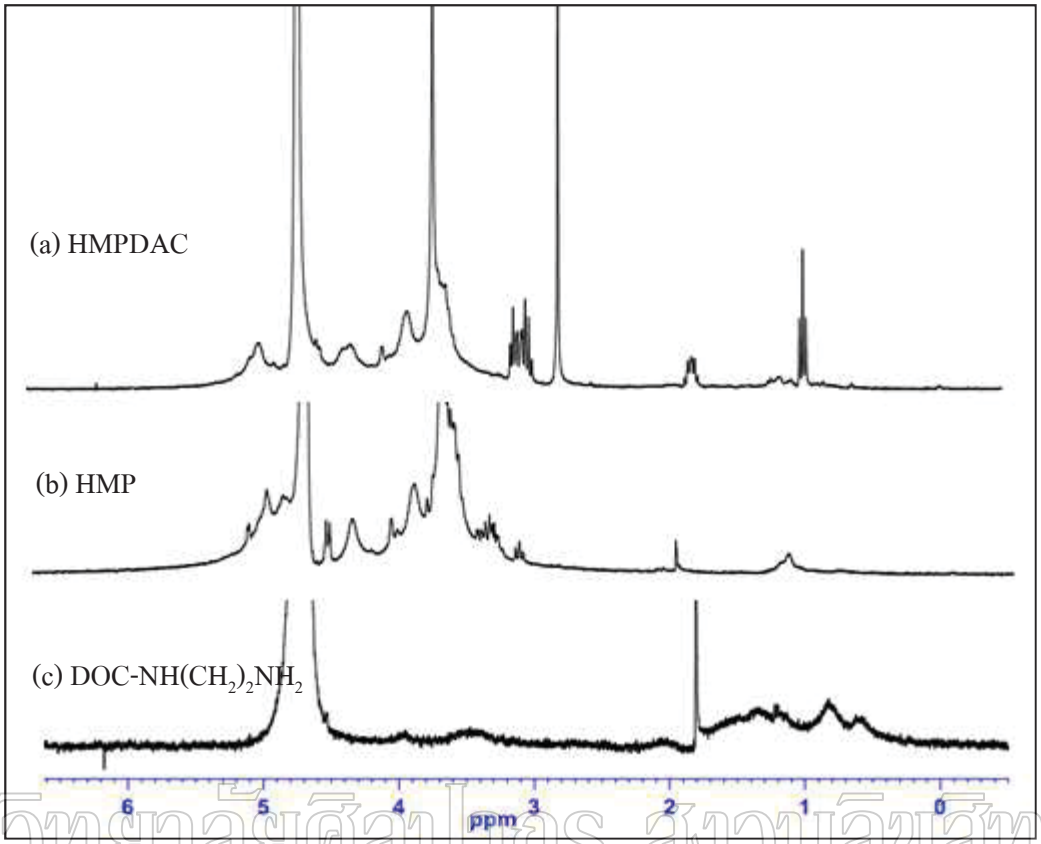
ภาพที่ 64 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิด LMP โดยใช้ตัวทำละลาย D_2O; (a) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC (b) เพกตินชนิด LMP และ (c) DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$

โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สเปกทรัมของสารทั้งสองชนิดปรากฏลักษณะสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งคล้ายกับสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC แสดงดังภาพที่ 65 และ 66



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 65 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย $CDCl_3$; (a) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC (b) เพกตินชนิด HMP และ (c) DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$

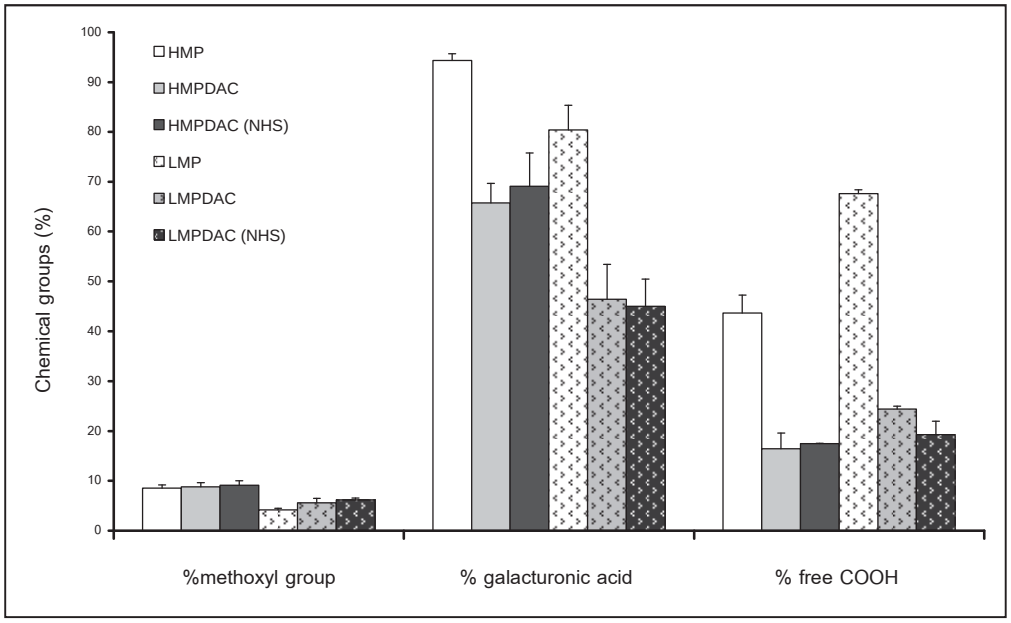


มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 66 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกทรัมของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC โดยใช้ตัวทำละลาย D_2O; (a) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC (b) เพกตินชนิด HMP และ (c) DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$

1.3.5 ผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิลเอสเทอร์และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในโมเลกุลเพกติน

วิเคราะห์หาปริมาณกรดกาแลกทูโรนิก หมู่เมทิลเอสเทอร์และหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในโมเลกุลเพกตินเปรียบเทียบระหว่างการทำปฏิกิริยาเคมีโดยใช้และไม่ใช้ NHS ในการทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ เข้ากับเพกตินทั้งสองชนิด ค่าที่ได้ปรากฏดังภาพที่ 67



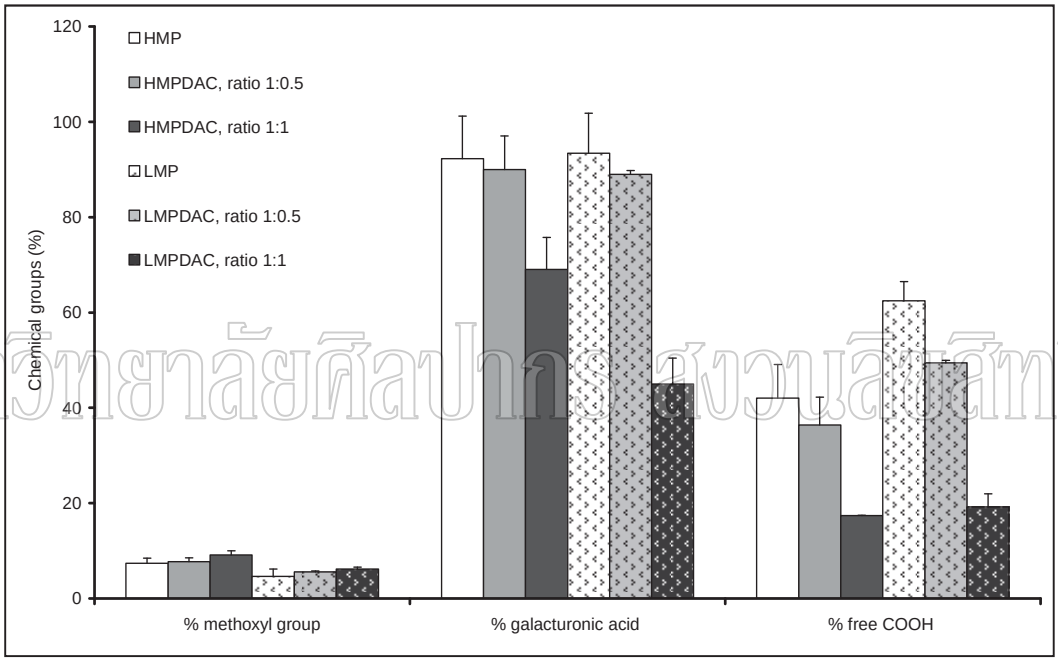
ภาพที่ 67 ปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์ กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระในสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

จากภาพที่ 67 แสดงให้เห็นว่าการเติมสาร NHS มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเข้าทำปฏิกิริยาได้เล็กน้อย เนื่องจากการทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อโดยใช้ EDC และมีการเติม NHS ร่วมด้วยจะทำให้การทำปฏิกิริยาเป็นไปอย่างสมบูรณ์มากขึ้น (Hermanson 1996 : 90-97) แต่มีปัจจัยสำคัญอื่นที่ต้องคำนึงถึงนอกเหนือจากการเติม NHS คือเวลาในการทำปฏิกิริยาและความชื้นในระบบขณะทำปฏิกิริยา การเติม NHS ทำให้เกิดสารมัธยันตร์ซึ่งมีเสถียรภาพและเกี่ยวข้องกับจำนวนผลผลิตที่ได้ต่อเวลาเพราะช่วงเวลาระหว่างการกระตุ้นให้คาร์บอกซิลิกแตกตัวเป็นคาร์บอกซิเลตอิออนเป็นระยะที่สั้นมากและปฏิกิริยาถูกรบกวนได้ง่ายด้วยน้ำหรือความชื้นในอากาศ ซึ่งในการศึกษานี้เลือกใช้เวลาสั้นที่สุดในช่วงเวลาที่ปฏิกิริยา การเติม NHS สำหรับปฏิกิริยาที่ทำโดยใช้ปริมาณสารในการเข้าทำปฏิกิริยาน้อยและทำปฏิกิริยาในระบบปิดภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนตลอดการทำปฏิกิริยา สารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่การเตรียมตัวอย่างในปริมาณที่มากหรือบรรยากาศมีความชื้นสูงซึ่งน้ำจะทำให้เกิดไฮโดรไลซิสทำให้ได้ผลผลิตน้อยและสารพลอยได้มาก เปรียบเทียบการลดลงของหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระของเพกตินชนิด LMP ลดลงมากกว่าเพกตินชนิด HMP เพราะเพกตินชนิด LMP มีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระที่มีอยู่เดิมมากกว่าประกอบกับน้ำหนักโมเลกุลของเพกตินชนิด LMP น้อยกว่า สายพอลิเมอร์ที่สั้นกว่าของ

LMP เอื้อต่อการเข้าทำปฏิกิริยามากกว่าพอลิเมอร์สายยาวที่มีอุปสรรคจากความเกะกะของกิ่งก้านและความซับซ้อนของสายพอลิเมอร์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเข้าแทนที่ที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลิกของกรดกาแลกทูโรนิกระหว่างสัดส่วนในการทำปฏิกิริยาของหมู่ต่างๆ บนเพกตินกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ 1:1 พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนจำนวนโมล DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ทำให้ปริมาณร้อยละของกรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระลดลง ภาพที่ 68 แสดงการเข้าแทนที่ของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกบนโครงสร้างหลักของเพกติน



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

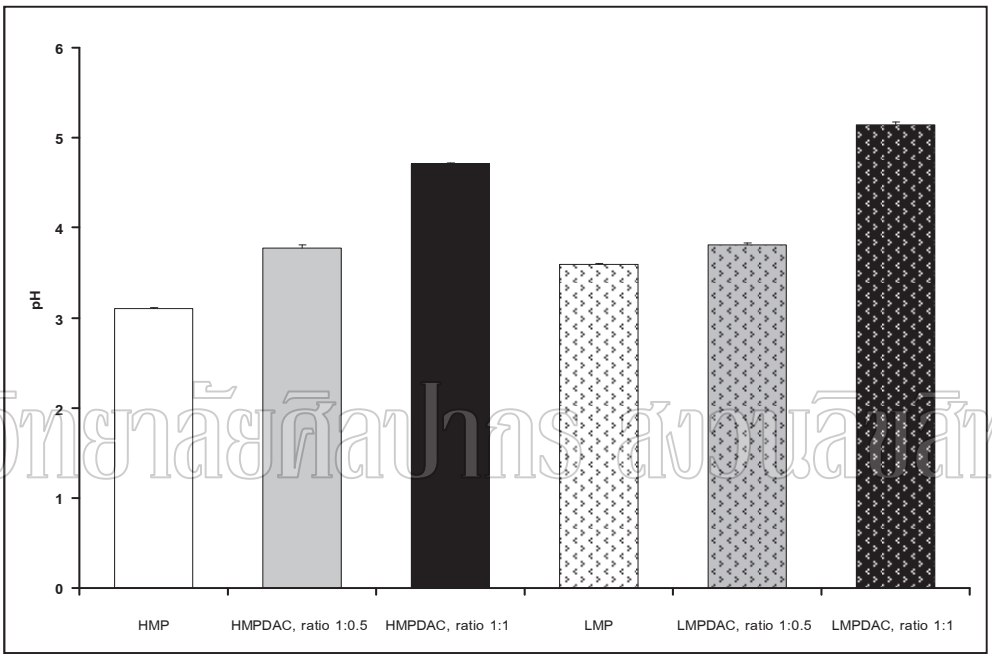
ภาพที่ 68 ปริมาณหมู่เมทิลเอสเทอร์ กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆ กัน

2. ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพ

2.1 ความเป็นกรดด่าง

เปรียบเทียบค่าความเป็นกรดด่างของเพกตินที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการดัดแปร โดยพบว่าภายหลังการดัดแปรเพกตินมีค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้นเป็นไปในแนวทางเดียวกันทั้งเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC และ HMPDAC เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างอัตราส่วนจำนวนโมลระหว่างเพกตินกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ พบว่าอัตราส่วน 1:0.5 ค่าความเป็นกรดด่าง

เปลี่ยนแปลงไปน้อยกว่าอัตราส่วน 1:1 และเพกตินชนิด LMP มีค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงไปมากกว่าเพกตินชนิด HMP เนื่องจากเพกตินชนิด LMP มีตำแหน่งคาร์บอกซิลิกอิสระอยู่มากกว่าจึงถูกแทนที่ได้มากกว่าส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าและค่าความเป็นกรดด่างที่เปลี่ยนแปลงไปสอดคล้องกับปริมาณกรดกาแลกทูโรนิกที่ลดลงและเมื่อเพิ่มปริมาณสัดส่วนของ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ มากขึ้นพบว่ามีค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้น แสดงว่าตำแหน่งของเพกตินที่เข้าปฏิกิริยาคือตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโครงสร้างหลักของเพกติน (ภาพที่ 69)



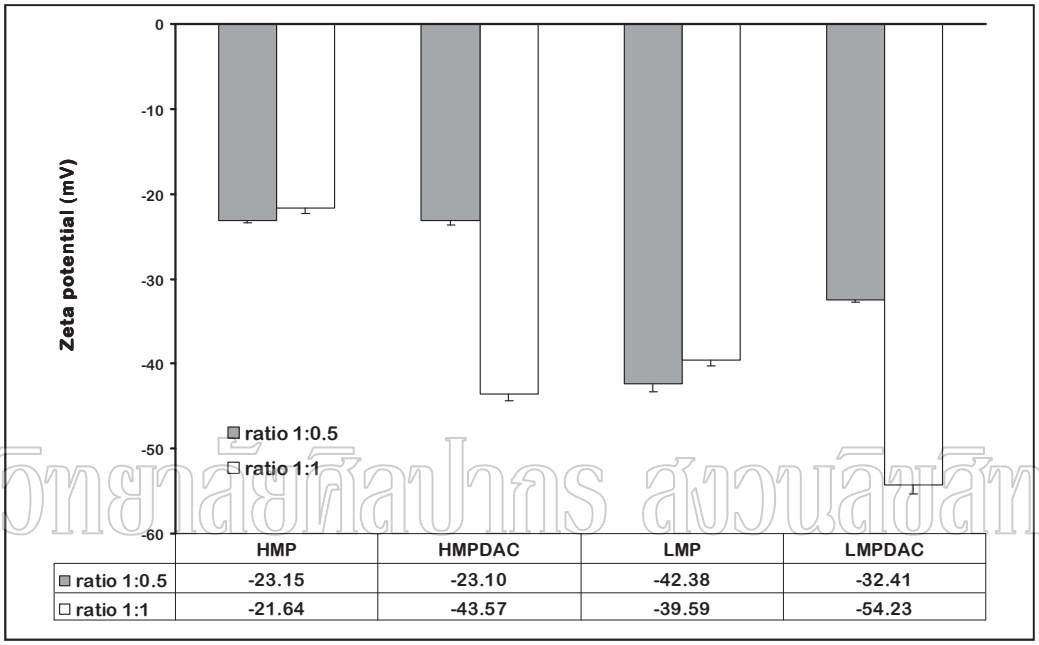
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 69 ความเป็นกรดด่างของของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH $(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆกัน

2.2 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา

สารตั้งต้นเพกตินมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเป็นลบเพราะการแตกตัวของเพกตินในน้ำกลั่นให้อิออนประจุลบจากกรดกาแลกทูโรนิกบนโครงสร้างหลักของเพกติน (ภาพที่ 70) หลังดัดแปรที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลิกของกรดกาแลกทูโรนิกค่าศักย์ไฟฟ้าน่าจะเป็นไปในทางบวกมากขึ้นแต่เมื่อวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรพบว่ามีความเป็นลบเพิ่มขึ้นและเพกตินดัดแปรทั้งสองชนิดเป็นไปในแนวทางเดียวกัน ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่เพกตินดัดแปรเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบโมเลกุลไม่ชอบน้ำที่เติมลงไปบนสายพอลิเมอร์หันส่วนไม่ชอบน้ำเข้าด้านในของอนุภาคเพื่อรักษาเสถียรภาพ ดังนั้นส่วนที่อยู่ด้านนอกสัมผัสกับน้ำคือส่วนที่สามารถละลายน้ำ

และแตกตัวให้อิออนประจุลบ ค่าประจุที่วัดได้จึงมีแนวโน้มไปทางลบมากขึ้น เพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยอัตราส่วนโมลเพกตินต่อ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ในอัตราส่วน 1:1 มีค่าความเป็นลบสูงกว่าเพราะมีโมเลกุลไม่ชอบน้ำบนสายพอลิเมอร์เพกตินมากกว่าอัตราส่วน 1:0.5 ดังนั้นเมื่อเพกตินอยู่ในน้ำเกิดแรงยึดกันระหว่างโมเลกุลไม่ชอบน้ำ (hydrophobic force) และมีอิทธิพลมากพอที่จะสามารถบังคับให้โมเลกุลชอบน้ำหันออกมาด้านนอกได้มากจึงวัดค่าประจุที่ผิวของอนุภาคได้ค่าลบมากกว่า



	HMP	HMPDAC	LMP	LMPDAC
ratio 1:0.5	-23.15	-23.10	-42.38	-32.41
ratio 1:1	-21.64	-43.57	-39.59	-54.23

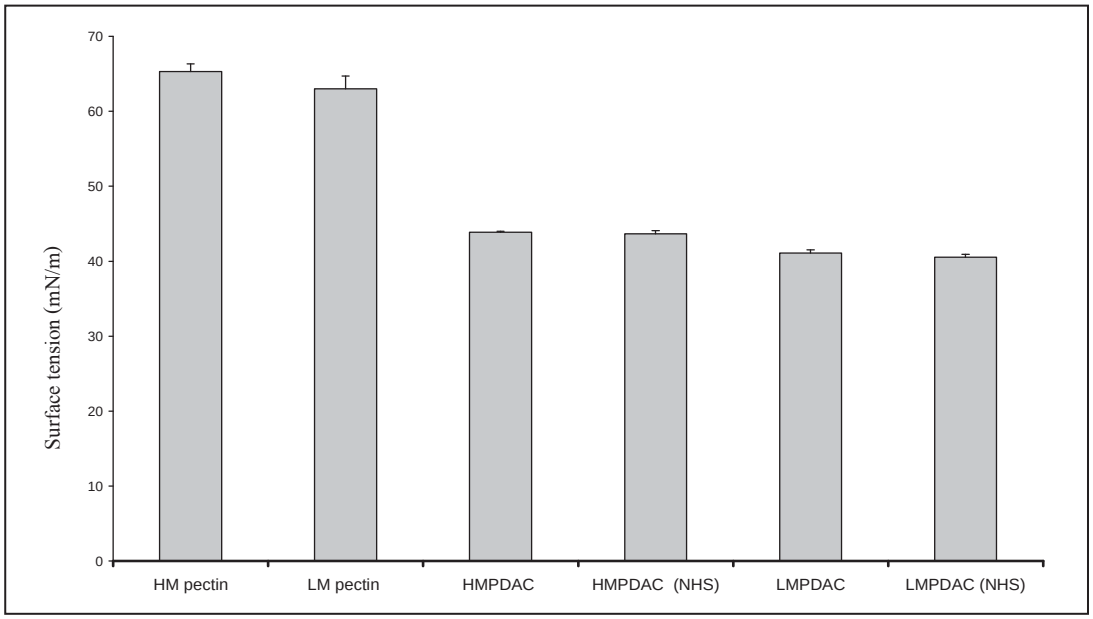
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 70 ศักย์ไฟฟ้าซีตาของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH $(CH_2)_2NH_2$ ต่างๆกัน

2.3 แรงตึงผิว

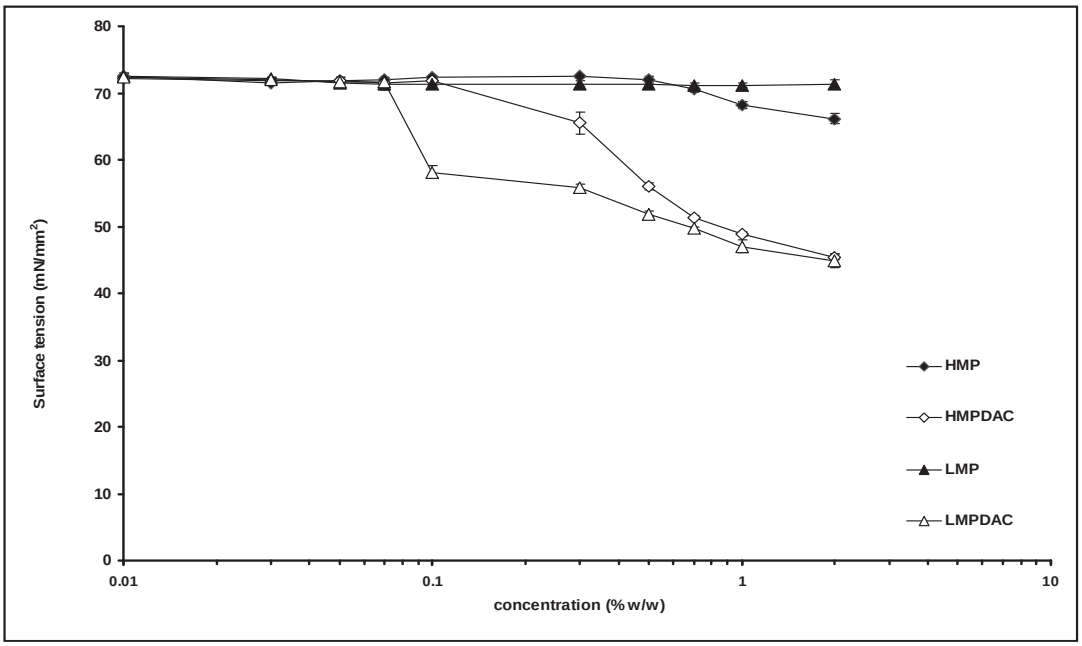
สารละลายเพกตินความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของเพกตินที่ผ่านการดัดแปรด้วยการเติมและไม่เติม NHS เมื่อนำมาวัดค่าแรงตึงผิวพบว่ามีค่าที่ลดลงและค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 71) เพกตินทุกชนิดให้ผลเป็นไปในแนวทางเดียวกันแสดงว่าการเติมหรือไม่เติม NHS ส่งผลไม่ชัดเจนต่อการทำปฏิกิริยาและเมื่อเปรียบเทียบค่าแรงตึงผิวของสารละลายเพกตินดัดแปรเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกตินพบว่าเพกตินดัดแปรมีแรงตึงผิวลดลงแสดงถึงความชอบน้ำที่ลดลง ตำแหน่งบนโครงสร้างเพกตินที่เกิดปฏิกิริยาคือตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกซึ่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ดี ดังนั้นเมื่อตำแหน่งนี้ถูกแทนที่ด้วย DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ซึ่งเป็นส่วนที่มีความไม่ชอบน้ำสูง จึงทำให้สมบัติความชอบน้ำของเพกตินเปลี่ยนแปลงไปในทางลดลง

ภาพที่ 72 พบว่าแรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นซึ่งอาจจะนำไปสู่การพัฒนาให้โมเลกุลสามารถจัดตัวในรูปแบบไมเซลล์ได้ (Mingmao 2010 : 1244-1251)



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 71 แรงตึงผิวสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิดต่างๆ



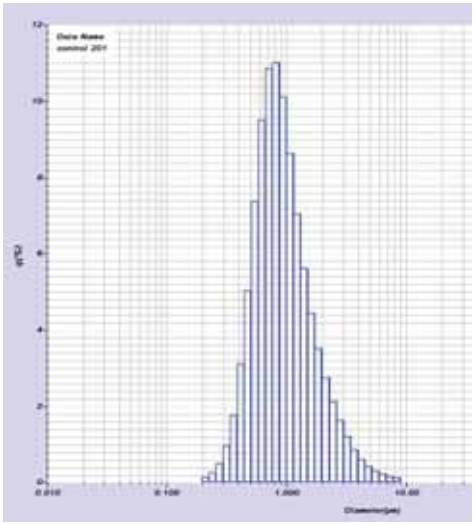
ภาพที่ 72 แรงตึงผิวของสารละลายสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก; เพกตินชนิด HMP เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC เพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC

2.4 ขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค

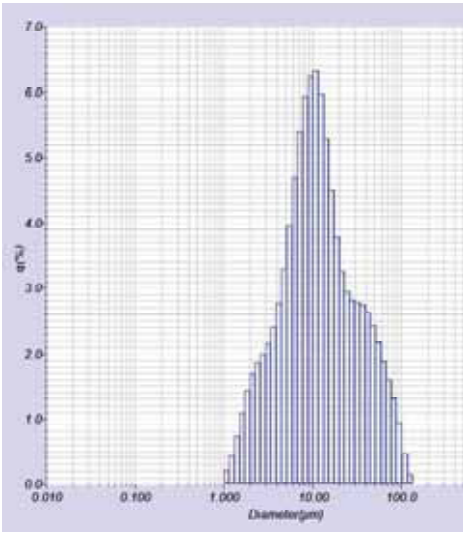
ลักษณะการกระจายขนาดของอนุภาคของทุกตัวอย่างเป็นการกระจายขนาดแบบหลากหลายอยู่ในช่วงกว้าง (polydispersion) มีการกระจายขนาดในรูปแบบระฆังคว่ำ (ภาพที่ 73) สำหรับเพกตินชนิด HMP ขนาดอนุภาคกระจายอยู่ในช่วง 3-10 ไมโครเมตรทั้งสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ในขณะที่เพกตินชนิด LMP ขนาดกระจายอยู่ในช่วง 30-70 ไมโครเมตรทั้งสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC เช่นกัน โดยลักษณะการกระจายขนาดของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC กว้างกว่า เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC เล็กน้อย

เพกตินดัดแปรที่มีการเข้าทำปฏิกิริยาของโมเลกุลเพกตินกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ในอัตราส่วน 1:0.5 มีขนาดใหญ่ขึ้นแต่กลับเล็กลงในเพกตินดัดแปรที่เข้าทำปฏิกิริยาด้วยอัตราส่วน 1:1 ซึ่งเป็นผลมาจากอัตราส่วนเข้าทำปฏิกิริยา 1:0.5 มีจำนวนหมู่ที่ไม่ชอบน้ำปริมาณน้อยกว่าทำให้เข้าเชื่อมต่อแต่ละตำแหน่งเกิดบริเวณที่ห่างกัน ส่งผลให้แรงยึดกันระหว่างโมเลกุลไม่ชอบน้ำ (hydrophobic force) จากโมเลกุล DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ที่เติมเข้าไปมีอิทธิพลต่ออนุภาคโดยรวมน้อย ในขณะที่อัตราการทำปฏิกิริยาในสัดส่วน 1:1 จำนวน DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ มีมากพอจะส่งอิทธิพลให้เกิดแรงยึดกันระหว่างโมเลกุลไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุล DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ บนสายเพกติน แรงที่เกิดขึ้นทำให้เกิดการดึงสายเพกตินในช่วงที่โมเลกุล DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ ต่ออยู่ให้เข้ามาใกล้กันขนาดอนุภาคจึงวัดได้จึงมีขนาดเล็กลง (ภาพที่ 74)

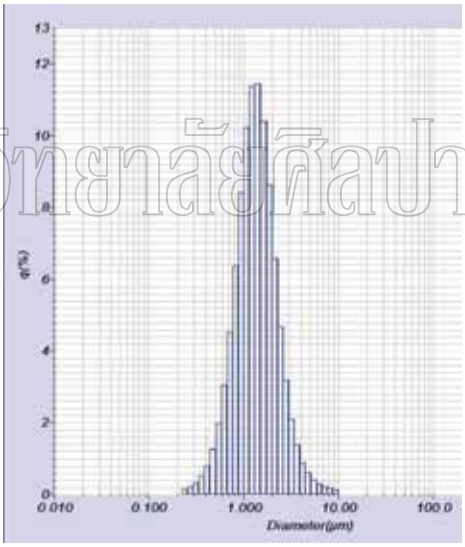
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



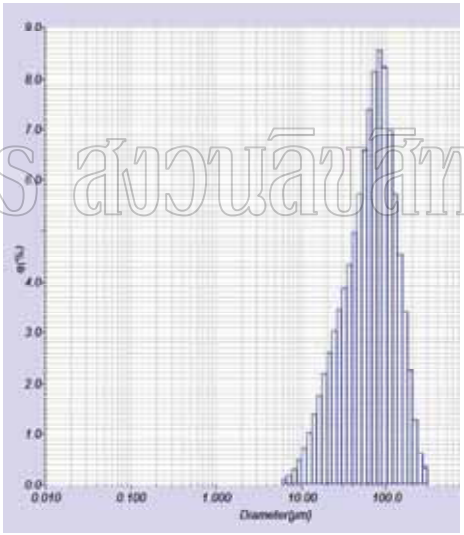
(a) HMP



(b) HMPDAC



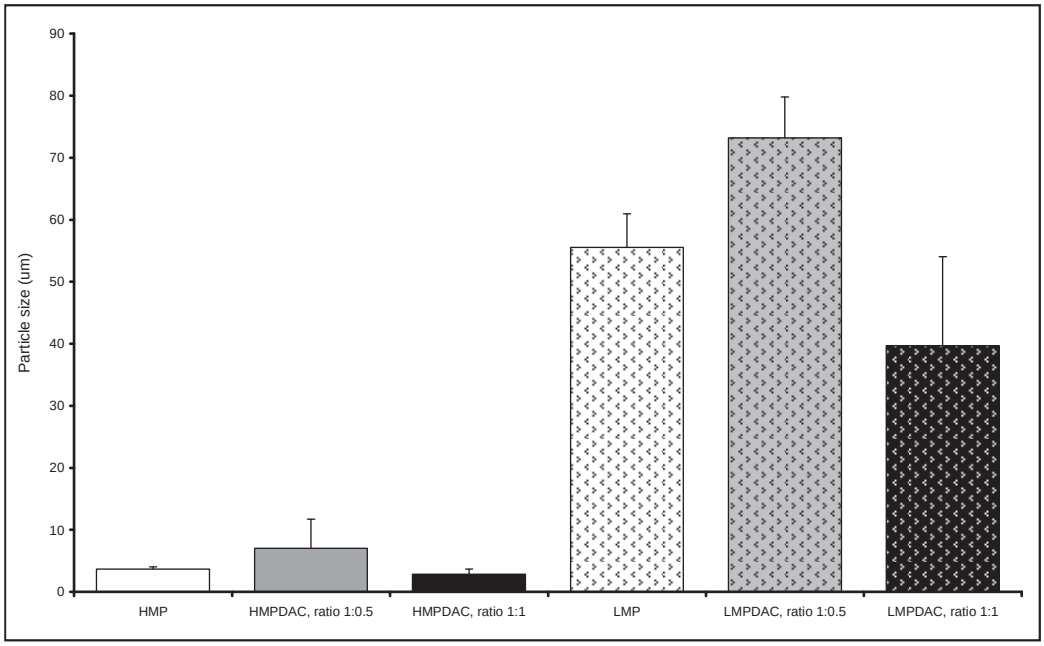
(c) LMP



(d) LMPDAC

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 73 การกระจายขนาดของอนุภาคสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร; (a) เพกตินชนิด HMP (b) เพกตินชนิด LMP (c) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และ (d) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC

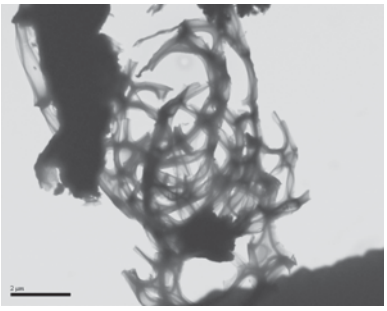
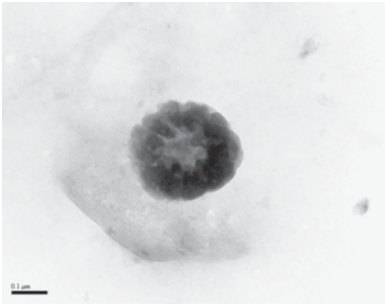
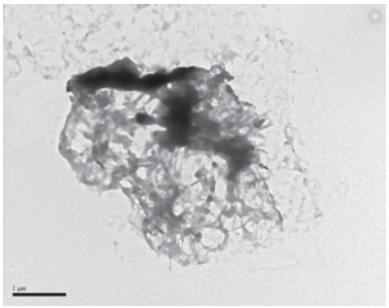
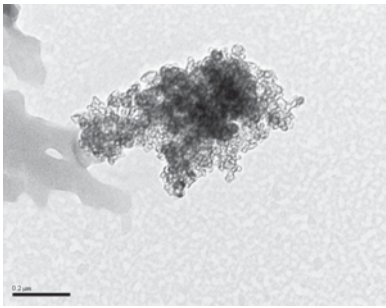


ภาพที่ 74 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปร; เพกตินชนิด HMP เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ 1:1 เพกตินชนิด LMP เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ 1:1

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.5 สัณฐานวิทยา

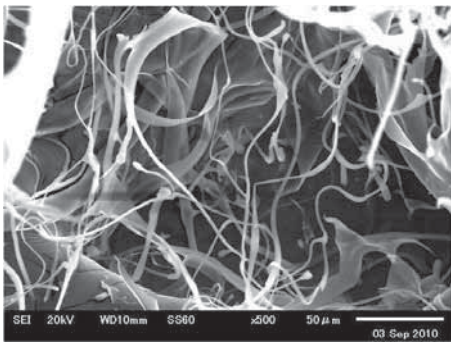
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (ทีอีเอ็ม) พบว่าเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 มีลักษณะคล้ายร่างแหขนาดแต่ละช่องประมาณ 0.5-2.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 75) ขนาดอนุภาคจากภาพถ่ายทีอีเอ็มเล็กกว่าที่วัดได้จากการวัดด้วยการกระเจิงลำแสงเลเซอร์เพราะการวัดด้วยวิธีทีอีเอ็มทำในสภาวะแห้ง ในขณะที่วัดด้วยวิธีกระเจิงลำแสงเลเซอร์นั้นวัดในขณะตัวอย่างเป็นอนุภาคลอยอยู่ในสารละลายขนาดที่วัดได้จึงขึ้นกับสมบัติการพองของพอลิเมอร์เช่นกันและพบอนุภาคลักษณะทรงกลมขนาดประมาณ 300 นาโนเมตร (ภาพที่ 75b) ซึ่งเป็นไปได้ว่าเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สามารถเตรียมเป็นอนุภาคขนาดนาโนเมตรได้ ในขณะที่เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 พบว่ามีลักษณะคล้ายการรวมกลุ่มของอนุภาค ไม่แยกจากกันอย่างชัดเจนจากภาพถ่ายทีอีเอ็มแสดงขนาดอนุภาคประมาณ 5 ไมโครเมตรและมีลักษณะเหมือนเส้นใยพอลิเมอร์ที่ขดไปมา (ภาพที่ 75c และ d) ขนาดอนุภาคที่วัดได้เล็กกว่าที่วัดโดยใช้วิธีกระเจิงลำแสงเลเซอร์ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอนุภาคอาจเกิดการรวมกลุ่มกันเมื่อวัดด้วยวิธีกระเจิงลำแสงเลเซอร์

 (a) HMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 8,000 เท่า	 (b) HMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 100,000 เท่า
 (c) LMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 30,000 เท่า	 (d) LMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 100,000เท่า

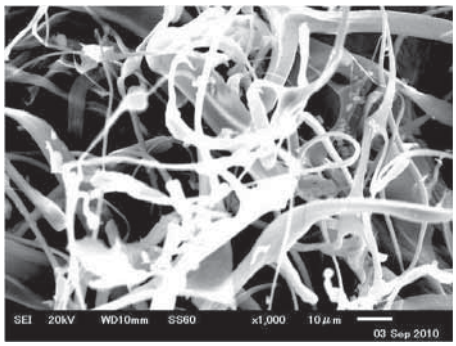
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 75 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเพกตินดัดแปร; (a) HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1, กำลังขยาย 8,000 เท่า (b) HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1, กำลังขยาย 100,000 เท่า (c) LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1, กำลังขยาย 30,000 เท่าและ(d) LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1, กำลังขยาย 100,000 เท่า

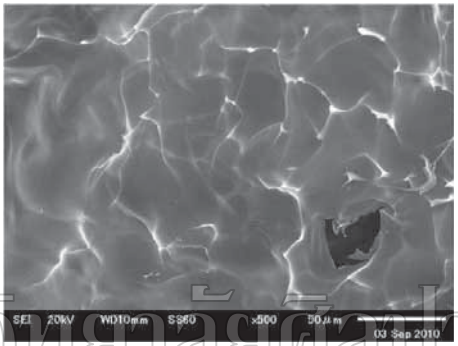
ภาพที่ 76 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของเพกตินชนิด LMP สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยลักษณะของเพกตินจากภาพถ่ายนี้สอดคล้องกับการวัดขนาดอนุภาคเพกตินชนิด LMP ซึ่งหลังผ่านการดัดแปรขนาดเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย แต่ในกรณีของเพกตินชนิด HMP (ภาพที่ 77) ที่กำลังขยาย 500 และ 1,000 เท่าของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 พบว่าลักษณะพอลิเมอร์หลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีเยือกแข็งภายใต้สุญญากาศทั้งรูปร่างลักษณะและขนาดของเส้นใยมีความแตกต่างจากสารตั้งต้นเพกตินเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 77c และ d) และเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 พบว่ามีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายสารตั้งต้นเพกตินเช่นกัน (ภาพที่ 77e และ f) ขนาดเส้นใยประมาณ 5-20 ไมโครเมตร



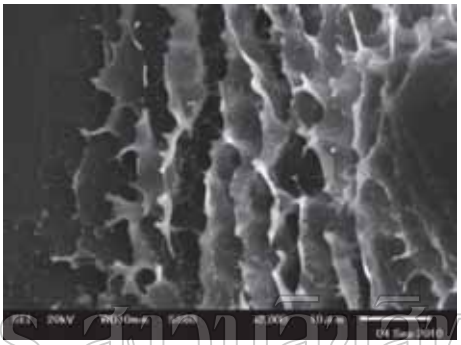
(a) LMP, กำลังขยาย 500 เท่า



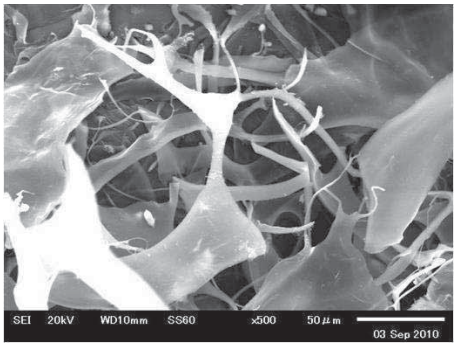
(b) LMP, กำลังขยาย 1,000 เท่า



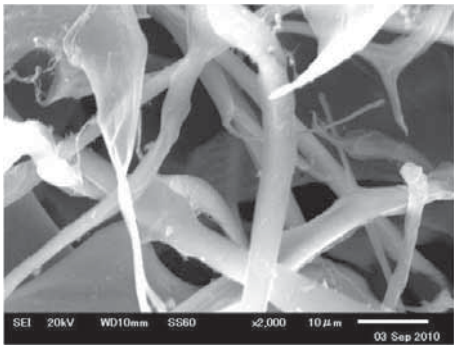
(c) LMPDAC ratio 1:0.5, กำลังขยาย 500 เท่า



(d) LMPDAC ratio 1:0.5, กำลังขยาย 2,000 เท่า



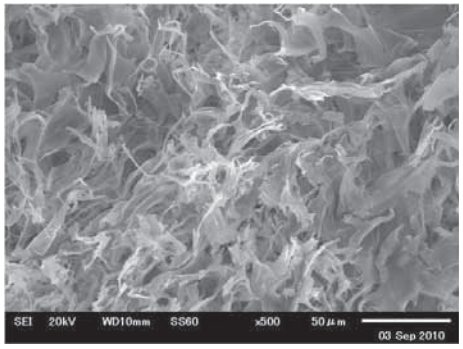
(e) LMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 500 เท่า



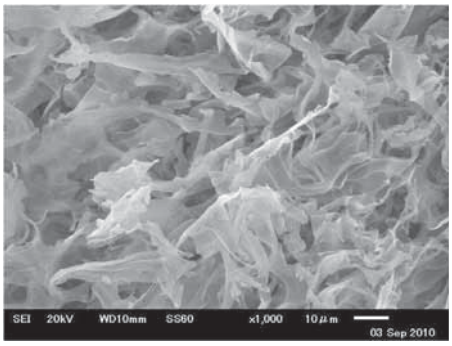
(f) LMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 2,000 เท่า

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

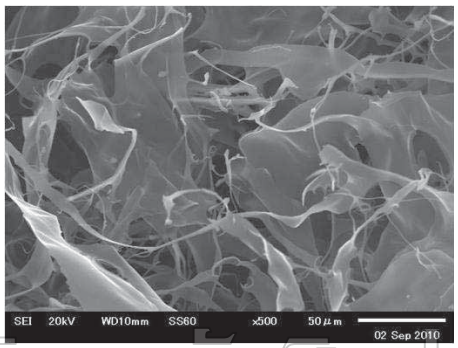
ภาพที่ 76 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปร; (a) เพกตินชนิด LMP กำลังขยาย 500 เท่า (b) เพกตินชนิด LMP กำลังขยาย 1,000 เท่า (c) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC สัดส่วนโมล 1:0.5 กำลังขยาย 500 เท่า (d) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC สัดส่วนโมล 1:0.5 กำลังขยาย 1,500 เท่า (e) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC สัดส่วนโมล 1:1 กำลังขยาย 500 เท่าและ (f) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC สัดส่วนโมล 1:1 กำลังขยาย 1,500 เท่า



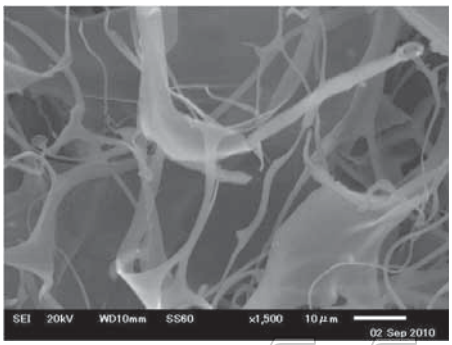
(a) HMP, กำลังขยาย 500 เท่า



(b) HMP, กำลังขยาย 1,000 เท่า

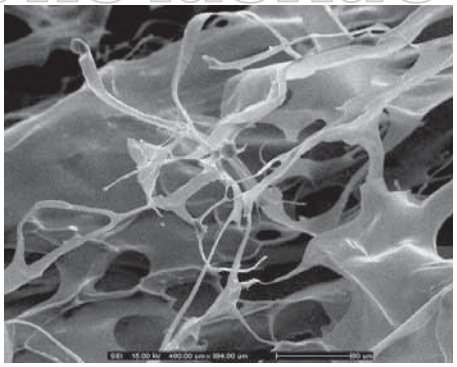


(c) HMPDAC ratio 1:0.5, กำลังขยาย 500 เท่า

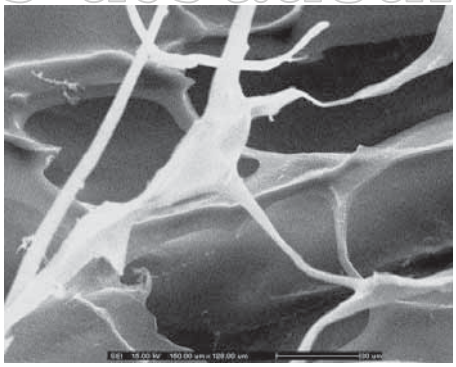


(d) HMPDAC ratio 1:0.5, กำลังขยาย 1,500 เท่า

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



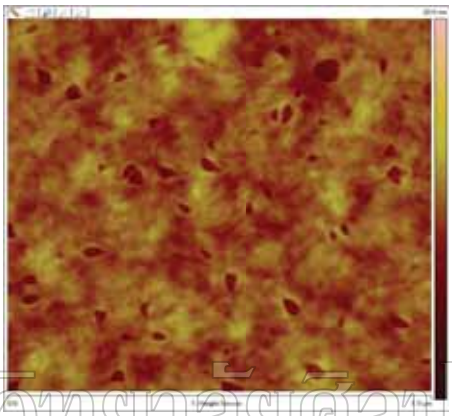
(e) HMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 500 เท่า



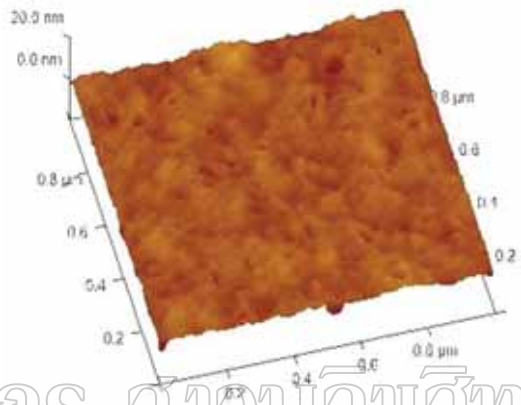
(f) HMPDAC ratio 1:1, กำลังขยาย 1,500 เท่า

ภาพที่ 77 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP และเพกตินดัดแปร; (a) เพกตินชนิด HMP กำลังขยาย 500 เท่า (b) เพกตินชนิด HMP กำลังขยาย 1,000 เท่า (c) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สัดส่วนโมล 1:0.5 กำลังขยาย 500 เท่า (d) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สัดส่วนโมล 1:0.5 กำลังขยาย 1,500 เท่า (e) เพกตินดัดแปร ชนิด HMPDAC สัดส่วนโมล 1:1 กำลังขยาย 500 เท่าและ (f) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สัดส่วนโมล 1:1 กำลังขยาย 1,500 เท่า

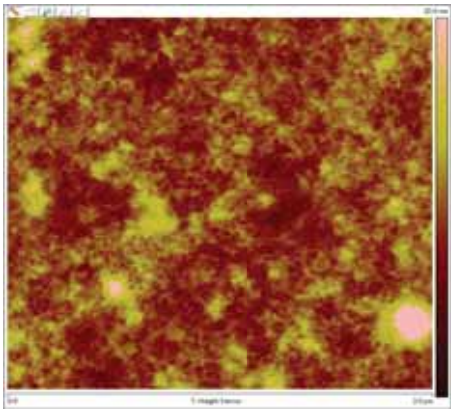
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม พบว่าเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ทั้งสองอัตราส่วนโมลแสดงลักษณะเส้นใยอยู่รวมกันเป็นกระจุกหนาแน่นในบางส่วนบนแผ่นไมกา (ภาพที่ 78) ในขณะที่ลักษณะอนุภาคของ HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 มีลักษณะเป็นเส้นใยพอลิเมอร์อยู่รวมกันเป็นกระจุก (ภาพที่ 79a และ b) ลักษณะอนุภาคของ HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 คล้ายรังผึ้งขนาดช่องประมาณ 200 นาโนเมตรกระจายออกอย่างสม่ำเสมอ (ภาพที่ 79c และ d)



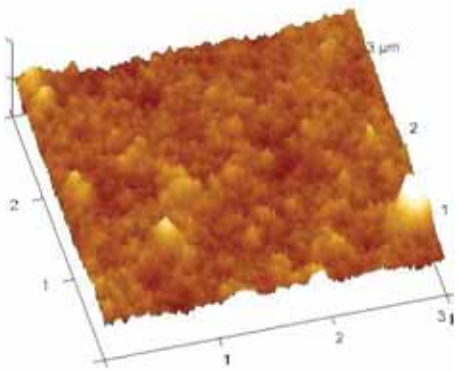
(a) LMPDAC ratio 1:0.5, ภาพด้านบน



(b) LMPDAC ratio 1:0.5, ภาพถ่ายสามมิติ



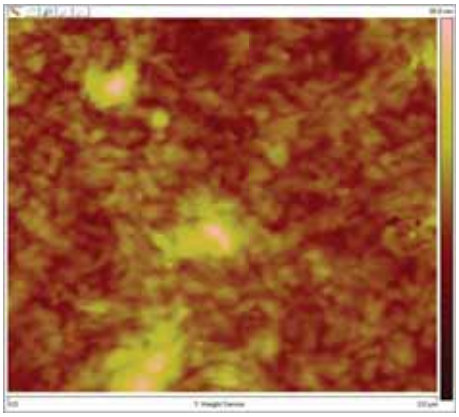
(c) LMPDAC ratio 1:1, ภาพด้านบน



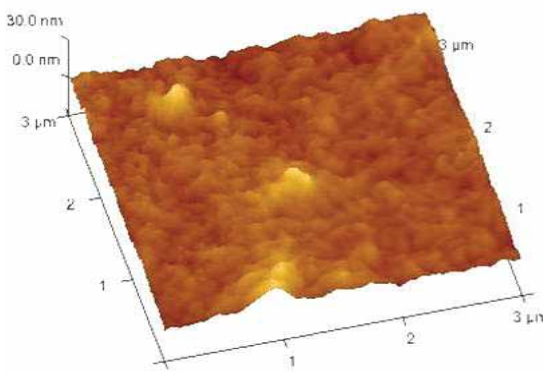
(d) HMPDAC ratio 1:1, ภาพถ่ายสามมิติ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

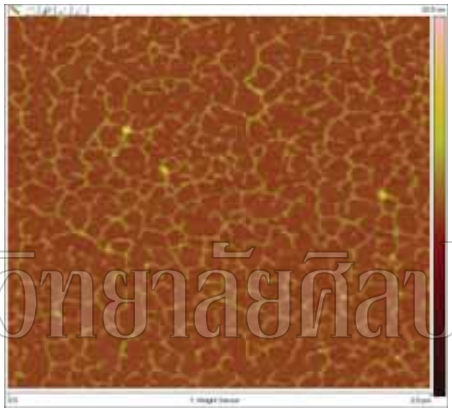
ภาพที่ 78 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอมของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC; (a) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 ภาพถ่ายจากด้านบน (b) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 ภาพถ่ายสามมิติ (c) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 ภาพถ่ายจากด้านบนและ (d) เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 ภาพถ่ายสามมิติ



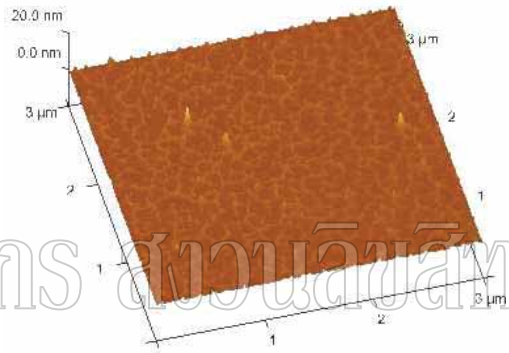
(a) HMPDAC, ratio 1:0.5, ภาพด้านบน



(b) HMPDAC, ratio 1:0.5, ภาพถ่ายสามมิติ



(c) HMPDAC, ratio 1:1, ภาพด้านบน



(d) HMPDAC, ratio 1:1, ภาพถ่ายสามมิติ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

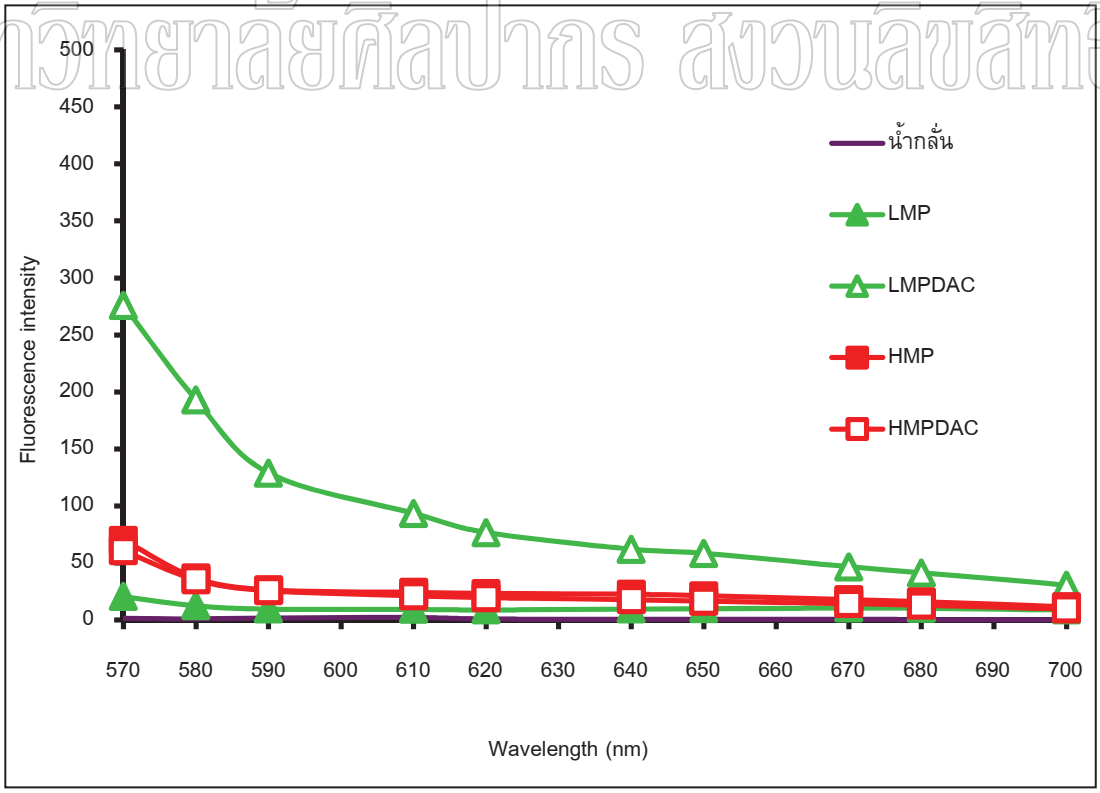
ภาพที่ 79 ภาพถ่ายจากล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอมของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC; (a) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 ภาพถ่ายจากด้านบน (b) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 ภาพถ่ายสามมิติ (c) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 ภาพถ่ายจากด้านบนและ (d) เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:1 ภาพถ่ายสามมิติ

2.6 ลักษณะความไม่ชอบน้ำ

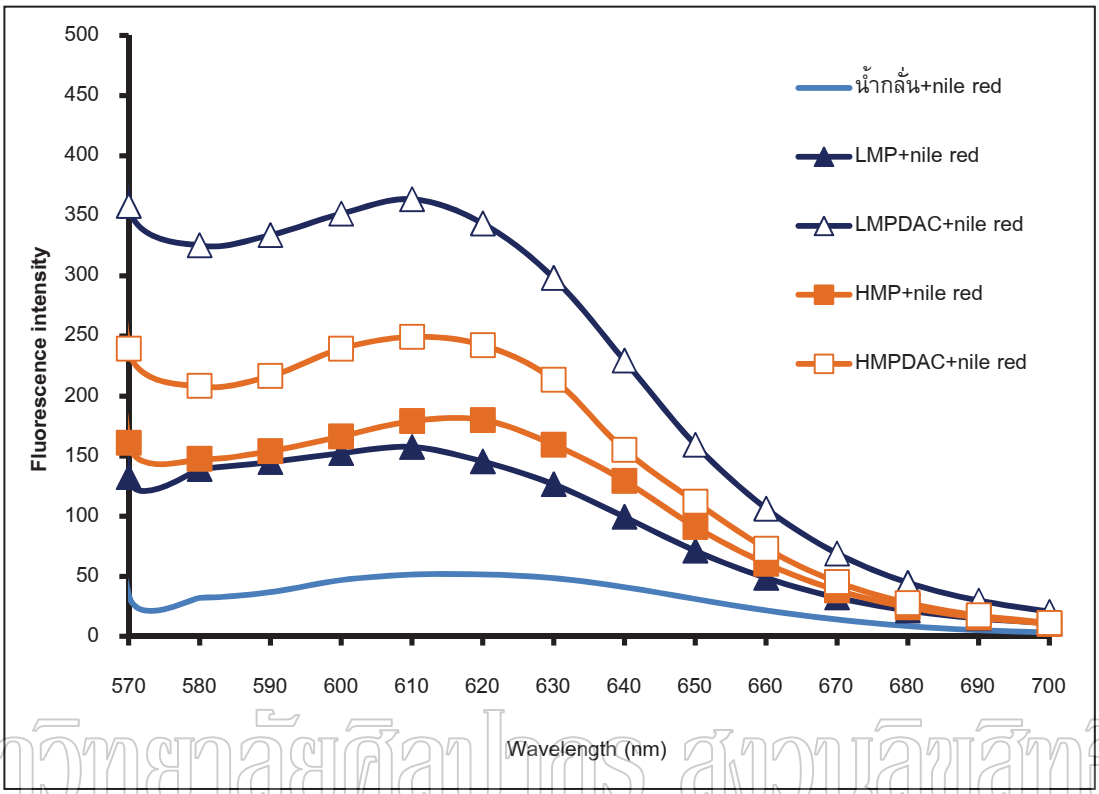
ทดสอบการกักเก็บสารไนล์เรดไว้ในอนุภาคและวัดค่าการวาวแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับสารตั้งต้น (Trimaille et al. 2006 : 147-154) ผลเปรียบเทียบค่าการวาวแสง แสดงการวาวแสงของสารละลายต่างๆ ที่เกี่ยวข้องก่อนผสมไนล์เรดแสดงในภาพที่ 80 วัดโดยใช้ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (excited wavelength) 546 นาโนเมตร และช่วงความยาวคลื่นการเปล่งแสง (emission

wavelength) ช่วง 550-700 นาโนเมตร สารตัวอย่างที่ไม่ผสมสารไนล์เรด มีค่าความเข้มการวาวแสงเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 80) จึงอาจสรุปได้ว่าสารตัวอย่างและตัวทำละลายไม่ส่งผลรบกวนการศึกษาลักษณะความไม่ชอบน้ำโดยการกักเก็บสารไนล์เรดไว้ภายในอนุภาค ภาพที่ 81 แสดงค่าการวาวแสงของสารหลังผสมไนล์เรดพบว่าความเข้มการวาวแสงสูงสุดของไนล์เรดที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร มีค่าแตกต่างกันจากน้อยไปมากตามลำดับดังนี้ น้ำกลั่น < LMP < HMP < HMPDAC < LMPDAC โดยความเข้มการวาวแสงเรียงลำดับตามจำนวนหมู่เมทอกซิลในโครงสร้างจากจำนวนหมู่เมทอกซิลน้อยไปมาก จากผลการศึกษาแสดงว่าหมู่เมทอกซิลบนสายหลักของเพกตินช่วยเพิ่มการละลายของสารที่ไม่ชอบน้ำซึ่งจะเห็นได้จากไนล์เรดสามารถวาวแสงได้เมื่อผสมร่วมกับเพกตินชนิด LMP และ HMP และสามารถวาวแสงได้มากขึ้นเมื่อผสมร่วมกับเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC และ HMPDAC ซึ่งการวาวแสงนี้อาจจะเกิดจากกลไกการช่วยละลายเพราะเมื่อเพิ่มสมบัติความไม่ชอบน้ำเข้าไปในโครงสร้างของเพกตินแล้วทำให้เพกตินประพฤติตัวเสมือนสารลดแรงตึงผิวมากขึ้น อย่างไรก็ตามเพกตินมีสมบัตินี้อยู่แต่เดิมจึงเห็นการวาวแสงเมื่อผสมไนล์เรดกับเพกตินชนิด LMP และ HMP

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 80 ความเข้มการวาวแสงของสารละลายต่างๆ ก่อนผสมไนล์เรด



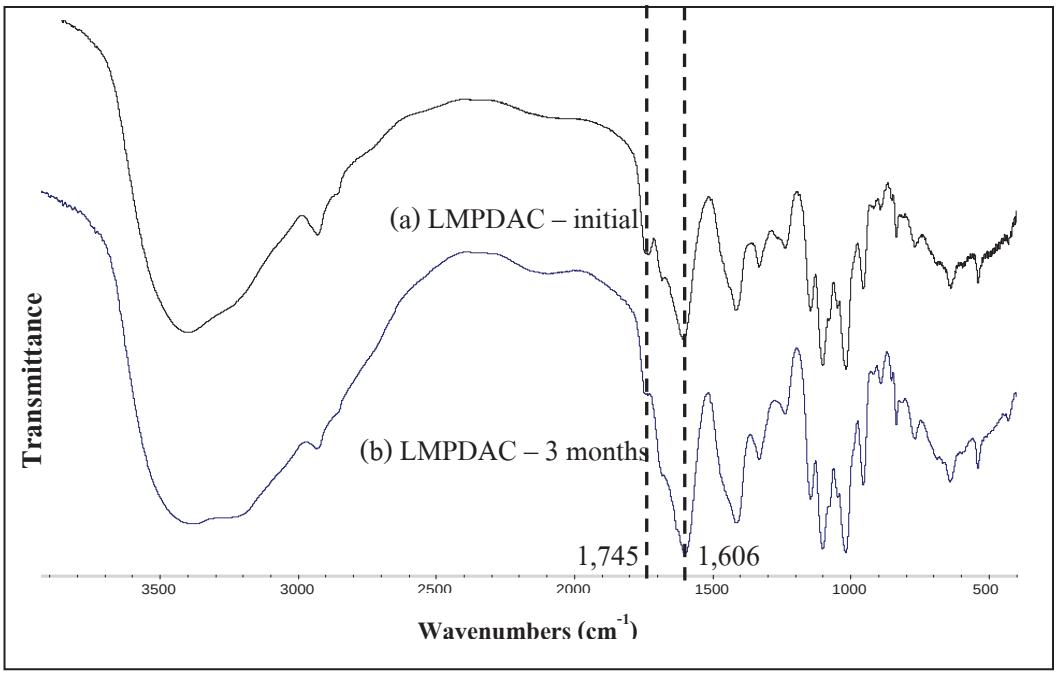
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 81 ค่าความเข้มการวาวแสงของสารละลายต่างๆ หลังผสมไนล์เรด

2.7 ความเสถียรของเพกตินดัดแปรโดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม

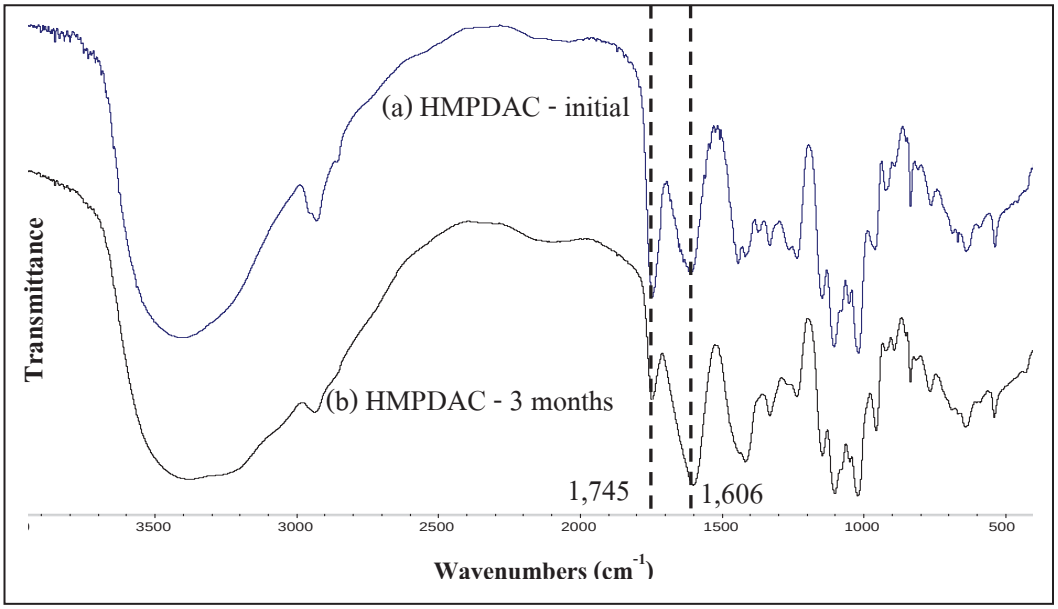
การศึกษาความเสถียรของเพกตินดัดแปรหลังจากเก็บไว้นาน 3 เดือนภายใต้สภาวะแวดล้อม (ambient condition) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 82 และ 83

เส้นสเปกทรัมจากการวิเคราะห์เพกตินดัดแปรที่ผ่านการเก็บ 3 เดือนภายใต้สภาวะแวดล้อมพบว่าพีกที่ตำแหน่งประมาณ 1,606 cm^{-1} มีความสูงและความกว้างเพิ่มขึ้นช่วงตำแหน่งนี้แสดงถึงการแตกออกของพันธะเอไมด์ ได้เป็นหมู่คาร์บอกซิลของกรดดีออกซีโคลิก หมู่เอมีนและหมู่คาร์บอกซิเลต เมื่อเทียบสัดส่วนของพีกพบว่าเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC (ภาพที่ 82) มีเสถียรภาพน้อยกว่าเพกตินชนิด HMPDAC (ภาพที่ 83)



ภาพที่ 82 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC; (a) LMPDAC ที่เวลาเริ่มต้น (LMPDAC - initial) และ (b) LMPDAC หลังเก็บไว้นาน 3 เดือน (LMPDAC – 3 months)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 83 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกทรัมของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC; (a) HMPDAC ที่เวลาเริ่มต้น (HMPDAC - initial) และ (b) HMPDAC หลังเก็บไว้นาน 3 เดือน (HMPDAC – 3 months)

บทที่ 5

สรุปผลของการศึกษาวิจัย

การสังเคราะห์เพื่อดัดแปรโครงสร้างของเพกติน โดยศึกษาเพกติน 2 กลุ่มคือ เพกตินชนิด HMP และ LMP สามารถเตรียมผ่านปฏิกิริยาเคมี 2 ขั้นตอนคือการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้านปลายของกรดดีออกซีโคลิกจากคาร์บอกซิลิกไปเป็นเอมีนโดยเชื่อมเข้ากับเอทิลีนไดเอมีนผ่านพันธะเอไมด์ได้สารผลิตภัณฑ์ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ และการเชื่อมด้านปลายหมู่ฟังก์ชันเอมีนเข้ากับเพกตินที่ตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระของกรดกาแลกทูโรนิกบนโครงสร้างหลักเพกตินผ่านพันธะเอไมด์ได้สารผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นเพกตินเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก

การศึกษาคุณลักษณะด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มเพื่อศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และ LMPDAC พบพีกซึ่งแสดงถึงอันตรกิริยาระหว่างเพกตินดัดแปรกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ การศึกษาด้วยวิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรีไม่ปรากฏพีกเอกลักษณ์ของกรดดีออกซีโคลิกแต่พบการหลอมเหลวเริ่มที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส จากการสังเกตภายใต้กล้องฮอตสเตจพบว่า DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เริ่มหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส ค่าที่ได้ใกล้เคียงกับค่าการหลอมเหลวจากวิธีดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลอริเมททรี ส่วนเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และ LMPDAC ไม่พบการเปลี่ยนแปลงภายใต้กล้องฮอตสเตจจนกระทั่งพอลิเมอร์ไหม้และเสียสภาพที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 190-220 องศาเซลเซียส การศึกษาด้วยวิธีโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์พบสัญญาณโปรตอนที่เพิ่มขึ้นในเพกตินดัดแปรเมื่อเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกตินที่ตำแหน่งซึ่งระบุได้ว่าเป็นกรดดีออกซีโคลิก จากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโมเลกุลของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ที่อัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ เป็น 1:0.5 และ 1:1 ลดลงเหลือร้อยละ 36.36±5.89 และ 17.43±0.08 ตามลำดับ กรณีเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ 1:1 ลดลงเหลือร้อยละ 49.44±0.53 และ 19.24 ± 2.71 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกตินพบว่าเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC มีปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระลดลงมากกว่าเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนโมลของเพกตินกับ DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$ พบว่าปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระของเพกตินดัดแปรทั้งสองชนิดมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกัน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

การศึกษาสมบัติทางกายภาพของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC และ LMPDAC พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของเพกตินชนิด HMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ1:1 เท่ากับ 3.78±0.03 และ 4.71±0.01 ตามลำดับกรณีเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC อัตราส่วนโมล 1:0.5 และ 1:1 มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.81±0.02 และ 5.14±0.04 ตามลำดับ ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างที่วัดได้จากเพกตินดัดแปรทั้งหมดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน เพกตินดัดแปรที่เตรียมได้มีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเป็นลบมากขึ้นและค่าแรงตึงผิวลดลงในทุกตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน ขนาดของอนุภาคเพกตินดัดแปรทั้งสองชนิดที่อัตราส่วนโมลระหว่างเพกตินและ DOC-$NH(CH_2)_2NH_2$ เป็น 1:0.5 มีขนาดใหญ่ขึ้นในขณะที่อัตราส่วนโมล 1:1 มีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นเพกติน ทั้งเพกตินชนิด HMP และ เพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC มีขนาดอนุภาคกระจายอยู่ในช่วง 3-10 ไมโครเมตร ส่วนเพกตินชนิด LMP และเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC มีขนาดอนุภาคกระจายอยู่ในช่วง 30-70 ไมโครเมตร

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากเทคนิคกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่าน ชนิดส่องกราดและชนิดแรงอะตอม พบว่ารูปร่างและการจัดเรียงโครงร่างของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ค่อนข้างกลมเมื่อสังเกตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านขนาดอยู่ในช่วง 0.5-2 ไมโครเมตร เมื่อสังเกตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านขนาดอยู่ในช่วง 5-20 ไมโครเมตร และเมื่อสังเกตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแรงอะตอมขนาดอยู่ในช่วง 0.2-0.5 ไมโครเมตร ในขณะที่เพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ที่สังเกตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านมีขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นเส้นใยขดไปมาและอยู่รวมกันเป็นกระจุกแต่ไม่สามารถวัดขนาดได้จากกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องกราดและชนิดแรงอะตอม นอกจากนั้นยังพบว่าเพกตินดัดแปรมีลักษณะความไม่ชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นโดยเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC มีลักษณะความไม่ชอบน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปมากกว่าเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC สอดคล้องกับข้อมูลปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระที่ลดลง การศึกษาความเสถียรของเพกตินดัดแปรพบว่าเพกตินดัดแปรมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปหลังจากเก็บไว้นาน 3 เดือนโดยมีสัดส่วนของพีกที่แสดงถึงอันตรกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอกซิลิกอิสระลดลง

จากผลการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่าการดัดแปรโครงสร้างของเพกตินสามารถทำได้โดยการสังเคราะห์และเชื่อมต่อเพกตินเข้ากับกรดดีออกซีโคลิกเพื่อลดสมบัติความไม่ชอบน้ำของเพกตินผ่านทางปฏิกิริยาเคมีสร้างพันธะโควาเลนท์ระหว่างโมเลกุลเพกตินช่วงที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระกับกรดดีออกซีโคลิกที่ด้านปลายต่อกับเอทิลีนไดเอมีนมาก่อนเพื่อให้สามารถเกิดปฏิกิริยาผ่านพันธะเอไมด์ งานวิจัยนี้อาจเป็นแนวทางในการพัฒนาวัสดุชนิดใหม่เพื่อนำมาใช้ในงานด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และเภสัชกรรมหรือเป็นทางเลือกในการนำวัสดุที่ได้จากการสังเคราะห์ดัดแปรวัสดุจากธรรมชาติมาศึกษาและใช้งานตามความเหมาะสมของสมบัติสาร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บรรณานุกรม

อมรรัตน์ ไชยเดชกำจร. “สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดโพลีแซคคาไรด์.” การประชุมวิชาการเรื่องจับกระแส : การรักษาและยาใหม่ 3. นครปฐม : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2008.

Alves, K.S., R.R.L. Vidal, and R.C. Balaban. “Chitosan derivatives with thickening properties obtained by reductive alkylation.” Materials Science and Engineering C 29 (2009) : 641-646.

Alves, N.M., and J.F. Mano. “Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications.” International Journal of Biological Macromolecules 43 (2008) : 401-414.

Barbosa, M.A. et al. “Polysaccharides as scaffolds for bone regeneration.” ITBM-RBM 26 (2005) : 212-217.

Barbucci, R. et al. “A thixotropic hydrogel from chemically cross-linked guar gum: synthesis, characterization and rheological behaviour.” Carbohydrate Research 343 (2008) : 3058-3065.

Beddow, C.G., H.W. Gil, and J.T. Guthie. “Investigation of the immobilisation of bovine serum albumin, trypsin, acid phosphate and alkaline phosphate to poly(hydroxyethyl acrylate)-co-cellulose and poly (hydroxyl acrylate)-co-pectin.” Polymer Bulletin 11 (1984) : 1-6.

Buchholt, H.C. et al. “Preparation and properties of enzymatically and chemically modified sugar beet pectins.” Carbohydrate Polymers 58 (2004) : 149-161.

Choi, J. et al. “Smart controlled preparation of multilayered hydrogel for releasing bioactive molecules.” Current Applied Physics 9 (2009) : 259-262.

Colinet, I. et al. “New amphiphilic modified polysaccharides with original solution behaviour in salt media.” Carbohydrate Polymers 75 (2009) : 454-462.

Corrales, F. et al. “Chemical modification of the jute fibers for the production of green composites.” Journal of Hazardous Materials 144 (2007) : 730-735.

Endress, H. U. “Nonfood uses of pectin.” The Chemical and Technology of Pectin. New York : Academic Press, 1991.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Gao, F. et al. “Deoxycholic acid modified-carboxymethyl curdlan conjugate as a novel carrier of epirubicin: In vitro and in vivo studies.” International Journal of Pharmaceutics 392 (2010) : 254-260.

George, M., and T.E. Abraham. “Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan.” Journal of Controlled Release 114 (2006) : 1-14.

Gottlieb, H.E., V. Kotlyar, and A. Nudelman. “NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities.” Journal of Organic Chemistry 62 (1997) : 7512-7515.

Gübitz, G.M., and A. C. Paulo. “New substrates for reliable enzymes: enzymatic modification of polymers.” Current Opinion in Biotechnology 14 (2003) : 577-582.

Herbstreith & Fox Inc. The specialist for pectin [Online]. Accessed 26 November 2009. Available from from http://herbstreich-fox.com/from research and development.html

Herbstreith & Fox Inc. The specialist for pectin [Online]. Accessed 26 November 2009. Available from http://herbstreich-fox.com/from research and development.html

Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques. U.S.A. : Academic Press, Inc., 1996.

Hornig, S., H. Bunjes, and T. Heinze. ”Preparation and characterization of nanoparticles based on dextran–drug conjugates.” Journal of Colloid and Interface Science 338 (2009) : 56-62.

Hu, Y. et al. “Novel biodegradable hydrogels based on pachyman and its derivatives for drug delivery.” International Journal of Pharmaceutics 371 (2009) : 89-98.

Hu, Y. et al. “Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles of the novel carboxymethyl pachyman-deoxycholic acid conjugates.” Carbohydrate Polymers 74 (2008) : 220-227.

Huo, M. et al. “Synthesis and characterization of low-toxic amphiphilic chitosan derivatives and their application as micelle carrier for antitumor drug.” International Journal of Pharmaceutics 394 (2010) : 162-173.

Ishikawa, H. et al. “Proton magnetic resonance assay of total and taurine-conjugated bile acids in bile.” Journal of Lipid Research 40 (1999) : 1920-1924.

Jayakumar, R. “Graft copolymerized chitosan - present status and applications.” Carbohydrate Polymers 62 (2005) : 142-158.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Jimenez, P. et al. “Antifungal protection and sizing of paper with chitosan salts and cellulose ethers. Part 1. Physical effects.” Journal of the American Institute for Conservation 41, 3 (2002) : 243-254.

Kim, S.K. et al. “Absorption study of deoxycholic acid-heparin conjugate as a new form of oral anti-coagulant.” Journal of Controlled Release 120 (2007) : 4-10.

Kim, S.K. et al. “Oral delivery of chemical conjugates of heparin and deoxycholic acid in aqueous formulation.” Thrombosis Research 117 (2006) : 419-427.

Koolman, J. and K.H. Roehm. Color Atlas of Biochemistry Stuttgart : George Thieme Verlag, 2005.

Kumi, K. et al. “Enhanced antitumor effect of camptothecin loaded in long-circulating polymeric micelles.” Journal of Controlled Release 112 (2006) : 329-332.

Leonarda, M. et al. “Hydrophobically modified alginate hydrogels as protein carriers with specific controlled release properties.” Journal of Controlled Release 98 (2004) : 395-405.

Li, F.T. et al. “Novel modified pectin for heavy metal adsorption.” Chinese Chemical Letters 18 (2007) : 325-328.

Liu, Z. et al. “Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems.” Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008) : 1650-1662.

Mahmud, A., X.B. Xiong, and A. Lavasanifar “Development of novel poly meric micellar drug conjugates and nano-containers with hydrolyzable core structure for doxorubicin delivery.” European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 69 (2008) : 923-934.

Maior, J.F.A.S. et al. “Reaction of pectin and glycidyl methacrylate and ulterior formation of free films by reticulation.” International Journal of Pharmaceutics 355 (2008) : 184-194.

Mattes, F. Cholesterol and the power of pectin [Online]. Accessed 15 July 2008. Available from http:/www.herbstreith-fox.com/ from research and development.html

Mehvar, R. “Dextrans for targeted and sustained delivery of therapeutic and imaging agents.” Journal of Controlled Release 69 (2000) : 1-25.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Merck Chemical Co., Ltd. Oleoyl–chloride [Online]. Accessed 1 February 2011. Avilable from http://www.merck-chemicals.com/oleoyl-chloride/MDA_CHEM822114/p_vYCb.s1 L5G8 AAAEWjeEfVhTl

Min, K.H. et al. "Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles-encapsulated camptothecin enhance the drug stability and tumor targeting in cancer therapy." Journal of Controlled Release 127 (2008) : 208-218.

Mingmao, C. et al., "Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles of 6-O-cholesterol-modified chitosan for drug delivery" Carbohydrate Polymers 84 (2011) : 1244-1251.

Mohnen, D. "Pectin structure and biosynthesis." Current Opinion in Plant Biology 11 (2008) : 266-277.

Mukhopadhyay, S., and U. Maitra. "Chemistry and biology of bile acids." Current Science 12, 87 (December 2004) : 1666-1683.

Oh, J.K., Do I.L., and Jong M.P. ."Biopolymer-based microgel/nanogels for drug delivery application." Progress in Polymer Science 34 (2009) : 1261-1282.

Onesippe, C., and S. Lagerge. "Study of the complex formation between sodium dodecyl sulfate and hydrophobically modified chitosan." Carbohydrate Polymers 74 (2008) : 648-658.

Online digital education connection. Plant cell [Online]. Accessed 25 December 2010, Available from http://www.odec.ca/projects /2004/mcgo4s0 /public_html

Oosterveld, A., G. Beldman, and A.G.J. Voragen. "Enzymatic modification of pectic polysaccha ride obtained from sugar beet pulp." Carbohydrate polymers 48 (2002) : 73-81.

Ortona, O. et al. "The aggregative behaviour of hydrophobically modified chitosans with high substitution degree of aqueous solution." Carbohydrate Polymers 74 (2000) : 16-22.

Park, J.H. et al. "Polymeric nanomedicine for cancer therapy." Progress in Polymer Science 33 (2008) : 113-137.

Pelletier, S. et al. "Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate: synthesis and physico-chemical properties of aqueous dilute solutions." Carbohydrate Polymers 43 (2000) : 343-349.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Perera, G., J. Barthelmes, and A. Bernkop-Schnürch. “Novel pectin-4-aminothio-phenole conjugate microparticles for colon-specific drug delivery.” Journal of Controlled Release 145 (2010) : 240-246.

Podhajecka, K., K. Prochazka, and D. Hourdet. “Synthesis and viscoelastic behavior of water-soluble polymers modified with strong hydrophobic side chains.” Polymer 48 (2007) : 1586-1595.

Prabaharan, M., and S. Gong. “Novel thiolated carboxymethyl chitosan-g-b-cyclodextrin as mucoadhesive hydrophobic drug delivery carriers.” Carbohydrate Polymers 73 (2008) : 117-125.

Ridley, B.L., M.A. O’Neill., and D. Mohnen. “Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalac turonide-related signaling.” Phytochemistry 57 (2001) : 929-967.

Rosenbohm, C. et al. “Chemically methylated and reduced pectins: preparation, charac- terisation by ^{1}H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties.” Carbohydrate Research 338 (2003) : 637-649.

Samstein, R. M. et al. “The used of deoxycholic acid to enhance the oral bioavalibility of bio degradable nanoparticles.” Biomaterials 29 (2008) : 703-708.

Sashiwa, H., and S. Aiba. “Chemically modified chitin and chitosan as biomaterials.” Progress in Polymer Science 29 (2004) : 887-908.

Shahnaz, G. “Synthesis, characterization, mucoadhesion and biocompatibility of thiolated carboxymethyl dextran–cysteine conjugate.” Journal of Controlled Release 144 (2010) : 32-38.

Tamaki, Y. et al. “Isolation and characterization of pectin from pericarp of citrus.” The Japanese of Applied Glycoscience 52 (2004) : 19-25.

Tang, X.H. et al. “Synthesis, characterization, and in vitro and in vivo evaluation of a novel pectin–adriamycin conjugate.” Bioorganic & Medicinal Chemistry 18 (2010) : 1599-1609.

Trimaille, T. et al. “Novel polymeric micelles for hydrophobic drug delivery based on biodegradablepoly (hexyl-substituted lactides).” International Journal of Pharmaceu tics 319 (2006) : 147-154.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Wang, F. et al., "Preparation and characterizations of a novel deoxycholic acid–O-carboxy methylated chitosan–folic acid conjugates and self-aggregates.", Carbohydrate Polymers 84 (2011) : 1192-1200.

Willats, W.G.T., J.P. Knox and D. Mikkelsen. "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel." Trend in Food Science & Technology 17 (2006) : 97-104.

Xiao, Y. et al. "Preparation and characterization of a novel pachyman-based pharmaceutical aid. II: A pH-sensitive, biodegradable and biocompatible hydrogel for controlled release of protein drugs." Carbohydrate Polymers 77 (2009) : 612-620.

Yang, L. et al. "Amphiphilic cholesteryl grafted sodium alginate derivative: Synthesis and self-assembly in aqueous solution." Carbohydrate Polymers 68 (2007) : 218-225.

Yokoyama, M. et al. "Incorporation of water-insoluble anticancer drug into polymeric micelles and control of their particle size." Journal of Controlled Release 55 (1998) : 219-229.

Zerrin, S., N. Yuksel and B. Tamer. "Preparation and characterization of polymeric micelles for solubilization of poorly soluble anticancer drugs." European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 64 (2006) : 261-268.

Zhang J. et al. "Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin." Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 3 (2007) : 258-265.

Zhang, Y. et al. "Potential of amphiphilically modified low molecular weight chitosan as a novel carrier for hydrophobic anticancer drug: Synthesis, characterization, micellization and cytotoxicity evaluation." Carbohydrate Polymers 77 (2009) : 231-238.

Zouambia, Y., N. Moulai-Mostefa, and M. Krea. "Structural characterization and surface activity of hydrophobically functionalized extracted pectins." Carbohydrate Polymers 78 (2009) : 841–846.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 11 คำย่อ คำเต็มภาษาอังกฤษและคำเต็มภาษาไทย

คำย่อ	คำเต็มภาษาอังกฤษ	คำเต็มภาษาไทย
AFM	Atomic force microscope	กล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม
$CDCl_3$	deuterated chloroform	ดิวเทอเรเทตคลอโรฟอร์ม
^{13}CNMR	Carbon nuclear magnetic resonance spectroscopy	สเปกโทรสโกปีชนิดคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์
D_2O	deuterium oxide	ดิวเทอเรียมออกไซด์
DOCA	deoxycholic acid	กรดดีออกซีโคลิก
DOC-NH$(CH_2)_2NH_2$	N-deoxycholyl aminoethyl amide	เอ็นดีออกซีโคลิลอะมิโนเอทิลเอไมด์
DSC	Differential scanning calorimetry	ดิฟเฟอร์เรนเทียลสแกนนิงแคลลอริเมททรี
EDC	N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride	เอ็นไดเมทิลอะมิโนโพรพิลเอ็นเอทิลคาร์โบไดอิไมด์ไฮโดรคลอไรด์
FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy	สเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด
HMP	high methoxyl pectin	เพกตินชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์สูงกว่าร้อยละ 50
HMPDAC	high methoxy pectin-deoxycholic acid conjugates	เพกตินชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์สูงกว่าร้อยละ50 ดัดแปรเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก
^{1}HNMR	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy	สเปกโทรสโกปีชนิดโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์
KBr	potassium bromide	โพแทสเซียมโบรไมด์
LMP	low methoxyl pectin	เพกตินชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์ต่ำกว่าร้อยละ 50

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 11 คำย่อ คำเต็มภาษาอังกฤษและคำเต็มภาษาไทย (ต่อ)

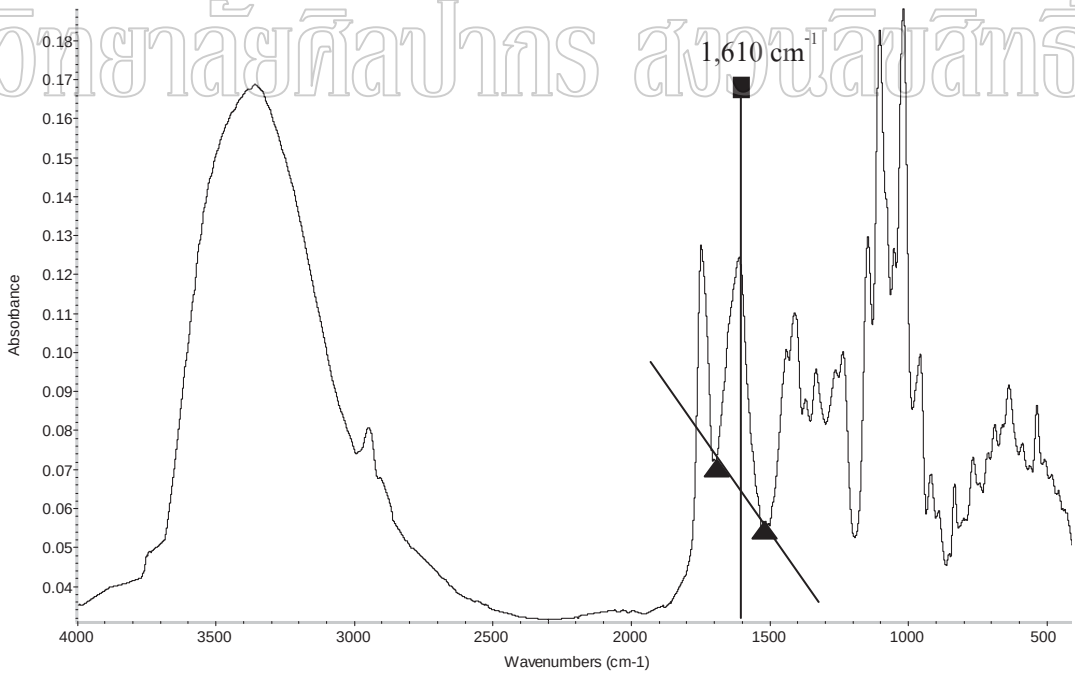
คำย่อ	คำเต็มภาษาอังกฤษ	คำเต็มภาษาไทย
LMPDAC	Low methoxy pectin-deoxycholic acid conjugates	เพกตินชนิดที่มีปริมาณการแทนที่ด้วยเอสเทอร์ต่ำกว่าร้อยละ50 ดัดแปรเชื่อมต่อกับกรดดีออกซีโคลิก
NHS	N-hydroxy succinimide	เอ็นไฮดรอกซีซักซินิไมด์
SEM	Scanning electron microscope	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
TEM	Transmission electron microscope	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

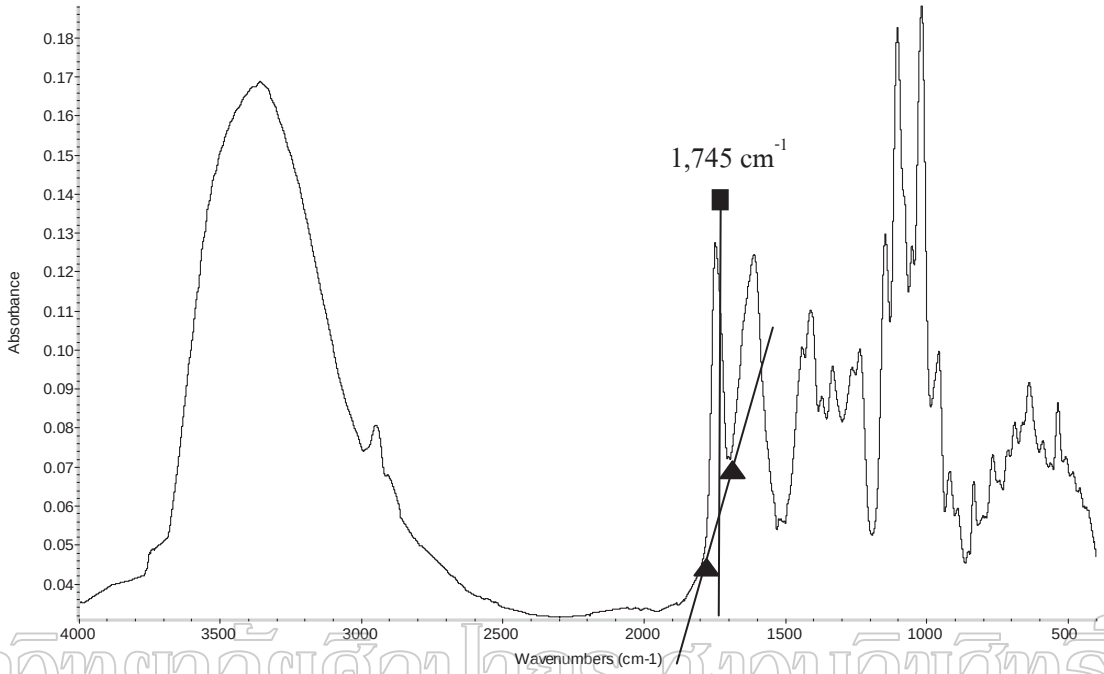
ตารางที่ 12 ค่าที่ได้จากการวัดความสูงของพีกจากสเปกทรัมอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีชนิดฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม ที่ 1,606 และ 1,745 cm^{-1}

	peak height at 1,745 cm^{-1}	peak height at 1,606 cm^{-1}	peak ratio 1,606/1,745
HMPDAC ratio 1:0.5	0.225	0.159	0.706
HMPDAC ratio 1:1	0.070	0.062	0.886
LMPDAC ratio 1:0.5	0.062	0.096	1.548
LMPDAC ratio 1:1	0.073	0.377	5.164

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



ภาพที่ 84 ตัวอย่างการวัดค่าเปรียบเทียบคาร์บอกซิลิกอิสระกับหมู่คาร์บอกซิลของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ratio 1:1 ที่ตำแหน่ง 1,610 cm^{-1}



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาพที่ 85 ตัวอย่างการวัดค่าเปรียบเทียบคาร์บอกซิลิกอิสระกับหมู่คาร์บอกซิลของเพกตินดัดแปร ชนิด HMPDAC ratio 1:1 ที่ตำแหน่ง 1,745 cm^{-1}

ตารางที่ 13 ร้อยละของหมู่เมทอกซิล กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโครงสร้างของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรอัตราส่วนโมล 1:0.5

ชนิดเพกติน	หมู่เมทอกซิล	กรดกาแลกทูโรนิก	หมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ
HMPDAC	7.43 ± 1.00	92.28 ± 8.93	42.01 ± 7.12
HMPDAC (NHS)	7.73 ± 0.77	89.99 ± 7.09	36.36 ± 5.89
LMPDAC	4.68 ± 1.48	93.39 ± 8.41	62.45± 4.06
LMPDAC (NHS)	5.63 ± 0.14	88.98 ± 0.82	49.44 ± 0.53

ตารางที่ 14 ร้อยละของหมู่เมทอกซิล กรดกาแลกทูโรนิกและหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระบนโครงสร้างของสารตั้งต้นเพกตินและเพกตินดัดแปรอัตราส่วนโมล 1:1

ชนิดเพกติน	หมู่เมทอกซิล	กรดกาแลกทูโรนิก	หมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ
HMP	8.50 ± 0.68	94.30 ± 1.36	43.70 ± 3.56
HMPDAC	8.79 ± 0.86	65.73 ± 3.95	16.43 ± 3.16
HMPDAC (NHS)	9.12 ± 0.89	69.07 ± 6.70	17.43 ± 0.08
LMP	4.17 ± 0.35	80.37 ± 4.94	67.61 ± 0.74
LMPDAC	5.61 ± 0.89	46.40 ± 7.02	24.38 ± 0.59
LMPDAC (NHS)	6.20 ± 0.37	45.00 ± 5.46	19.24 ± 2.71

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 15 ตำแหน่งสัญญาณโปรตอนจากการทดสอบด้วยนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ของตัวทำละลายที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา (Gottlieb et al., 1997 : 7513)

	proton	multiplet	$CDCl_3$	C_6D_6	CD_3CN	CD_3OD	D_20
solvent residual peak			7.26	7.16	1.94	3.31	4.79
H_2O		s	1.56	0.40	2.13	4.87	-
acetic acid	CH_3	s	2.10	1.55	1.96	1.99	2.08
acetone	CH_3	s	2.17	1.55	2.08	2.15	2.22
acetonitrile	CH_3	s	2.10	1.55	1.96	2.03	2.06
benzene	CH	s	7.36	7.15	7.37	7.33	-
chloroform	CH	s	7.26	6.15	7.58	7.90	-
cyclohexane	CH_2	s	1.43	1.40	1.44	1.45	-
dichloromethane	CH_2	s	5.30	4.27	5.44	5.49	-
dimethylformamide	CH	s	8.02	7.63	7.92	7.97	7.92
	CH_3	s	2.96	2.36	2.89	2.99	3.01
	CH_3	s	2.88	1.86	2.77	2.86	2.85
dimethyl sulfoxide	CH_3	s	2.62	1.68	2.50	2.65	2.71
ethanol	CH_3	t,7	1.25	0.96	1.12	1.19	1.17
	CH_2	q,7d	3.72	3.34	3.54	3.60	3.65
	OH	s c,d	1.32	-	2.47	-	-
methanol	CH_3	s h	3.49	3.07	3.28	3.34	3.34
	OH	s c,h	1.09	-	2.16	-	-
pyridine	CH(2)	m	8.62	8.53	8.57	8.53	8.52
	CH(3)	m	7.29	6.66	7.33	7.44	7.45
	CH(4)	m	7.68	6.98	7.73	7.85	7.87
silicone grease	CH_3	s	0.07	0.29	0.08	0.10	-
tetrahydrofuran	CH_2	m	1.85	1.40	1.80	1.87	1.88
	CH_2O	m	3.76	3.57	3.64	3.71	3.74
triethylamine	CH_3	t,7	1.03	0.96	0.96	1.05	0.99
	CH_2	q,7	2.53	2.40	2.45	2.58	2.57

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 16 แรงตึงผิวของสารตั้งต้นเพกตินชนิด HMP ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก

ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2.00	65.74	61.39	68.37	64.94	65.54	69.15	65.85	64.65	67.86	68.1	65.86	2.30
1.00	64.63	65.93	69.98	71.56	71.72	69.52	65.74	68.72	66.9	67.3	68.89	2.48
0.70	68.54	71.87	70.04	71.12	66.43	71.93	72.01	71.46	71.54	71.39	69.99	1.82
0.50	71.98	72.53	72.19	71.30	71.84	71.97	71.49	72.27	72.56	71.83	71.97	0.41
0.30	72.53	72.71	71.91	72.80	71.89	72.52	72.80	73.10	71.75	72.42	72.39	0.45
0.10	72.58	72.51	72.53	71.89	72.26	72.39	72.10	72.42	72.37	72.36	72.36	0.21
0.07	72.23	71.84	71.89	72.13	71.97	70.53	72.09	72.19	72.34	72.14	71.77	0.52
0.05	71.55	71.59	72.03	72.02	71.85	71.49	71.67	72.02	72.03	72.04	71.76	0.23
0.03	70.71	72.21	71.86	71.75	72.00	72.03	71.07	71.58	70.90	70.60	71.76	0.60
0.01	72.57	72.29	72.76	72.08	72.61	72.52	72.99	72.24	72.79	72.45	72.47	0.28

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ตารางที่ 17 แรงตึงผิวของสารตั้งต้นเพกตินชนิด LMP ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก

ความเข้มข้น (ร้อยละ โดยน้ำหนัก)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2.00	62.21	62.04	66.32	63.89	63.95	64.12	63.21	61.45	63.90	62.00	63.76	1.45
1.00	62.81	62.99	63.38	63.56	63.06	63.14	63.42	62.85	62.56	63.14	63.16	0.31
0.70	70.33	70.57	71.06	70.97	70.9	71.08	70.09	70.55	70.49	70.59	70.82	0.33
0.50	69.20	70.44	70.91	70.34	70.2	70.64	71.55	71.68	71.29	71.77	70.29	0.80
0.30	70.11	70.14	70.49	70.47	70.29	70.16	70.42	70.75	71.10	70.38	70.28	0.31
0.10	71.52	71.48	71.21	71.55	71.30	71.40	70.93	71.67	72.14	70.92	71.41	0.36
0.07	71.51	71.68	71.51	71.57	71.68	71.29	71.44	71.42	70.94	71.85	71.54	0.25
0.05	71.46	72.51	71.57	71.61	71.76	71.77	72.47	71.20	70.88	71.45	71.78	0.51
0.03	71.64	71.84	71.89	71.93	72.04	72.05	72.70	72.95	72.14	71.42	71.90	0.46
0.01	72.02	72.3	72.05	72.37	72.56	71.91	71.95	71.97	72.02	72.36	72.20	0.23

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 18 แรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรชนิด HMPDAC ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก

ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2.00	45.27	45.69	46.05	44.64	44.78	45.67	45.83	45.76	45.24	45.84	45.35	0.48
1.00	48.88	49.57	48.90	48.89	49.14	48.71	49.33	48.39	48.44	48.95	49.02	0.36
0.70	50.67	51.66	51.70	51.54	51.22	51.17	51.23	51.66	51.47	51.43	51.33	0.31
0.50	56.29	56.05	56.10	54.87	55.58	56.14	56.32	56.59	56.31	56.24	55.84	0.49
0.30	64.73	65.17	64.80	63.86	64.97	68.30	67.85	65.22	67.10	63.19	65.31	1.68
0.10	71.39	71.90	71.87	71.50	72.00	71.97	71.95	71.14	72.19	72.09	71.77	0.34
0.07	69.37	72.15	71.85	71.30	72.09	71.97	71.95	69.91	71.89	71.79	71.46	0.98
0.05	71.39	71.40	72.70	71.47	72.17	72.18	71.91	71.35	72.05	72.25	71.89	0.46
0.03	72.30	72.32	71.95	72.17	71.36	71.08	71.96	71.06	71.73	71.89	71.86	0.47
0.01	72.05	71.75	72.31	72.39	71.80	72.07	72.22	72.14	72.20	72.08	72.06	0.20

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 19 แรงตึงผิวของเพกตินดัดแปรชนิด LMPDAC ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-2.00 โดยน้ำหนัก

ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2.00	42.99	43.54	45.28	45.74	45.50	45.66	45.68	45.47	45.24	43.52	44.79	1.07
1.00	45.23	45.87	47.78	46.03	47.48	47.79	47.58	47.64	47.25	47.38	46.70	0.93
0.70	48.97	49.93	49.95	49.71	49.88	49.82	49.64	49.76	49.51	49.71	49.71	0.29
0.50	51.64	52.40	52.34	52.27	51.56	51.53	51.31	51.55	52.31	52.04	51.96	0.42
0.30	55.88	54.74	55.61	55.37	56.26	55.39	56.04	56.53	56.19	55.65	55.54	0.53
0.10	56.98	58.58	58.60	58.89	58.53	59.17	58.96	56.68	57.12	57.98	58.46	0.91
0.07	71.33	71.51	71.41	71.77	71.76	71.48	71.69	72.04	71.64	71.60	71.54	0.21
0.05	71.23	72.01	71.70	72.23	71.61	71.91	71.69	71.42	71.51	71.94	71.78	0.30
0.03	71.71	72.60	71.46	72.36	71.97	71.99	72.38	72.17	72.18	71.85	72.02	0.34
0.01	72.21	72.66	72.39	72.40	72.38	72.20	72.25	72.41	72.23	72.29	72.37	0.14

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 20 ขนาดอนุภาคของเพกตินชนิดต่างๆ

N	ชนิดเพกติน					
	HMP	LMP	HMPDAC ratio 1:0.5*	LMPDAC ratio 1:0.5	HMPDAC ratio 1:1	LMPDAC ratio 1:1
1	3.21	63.67	10.74	71.36	1.37	52.41
2	3.92	58.25	10.96	76.12	3.62	45.80
3	3.28	47.77	9.63	67.51	2.92	58.27
4	3.62	54.74	/	71.11	3.70	27.16
5	3.84	51.96	/	68.06	2.45	24.54
6	4.08	56.70	/	85.14	2.95	29.94
ค่าเฉลี่ย	3.66	55.51	10.44	73.22	2.83	39.69
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.35	5.45	0.72	6.60	0.86	14.32

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

* n=3 (สารตัวอย่างปริมาณน้อย)

ตารางที่ 21 ศักย์ไฟฟ้าซีตาของเพกตินชนิดต่างๆ (n=4)

ชนิดเพกติน	ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
HMP	-21.64 ± 0.63
LMP	-39.59 ± 0.60
HMPDAC ratio 1:0.5	-23.10 ± 0.50
LMPDAC ratio 1:0.5	-32.41 ± 0.29
HMPDAC ratio 1:1	-43.57 ± 0.86
LMPDAC ratio 1:1	-54.23 ± 1.09

ตารางที่ 22 ความเป็นกรดด่างของเพกตินชนิดต่างๆ (n=4)

ชนิดเพกติน	ค่าความเป็นกรดด่าง
HMP	3.11 ± 0.01
LMP	3.59 ± 0.01
HMPDAC ratio 1:0.5	3.78 ± 0.03
LMPDAC ratio 1:0.5	3.81 ± 0.02
HMPDAC ratio 1:1	4.71 ± 0.01
LMPDAC ratio 1:1	5.14 ± 0.04

ตารางที่ 23 ความเข้มการวาวแสงของสารตัวอย่างก่อนผสมกับไนล์เรด

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

	ความเข้มการวาวแสง				
Wavelength (nm)	น้ำกลั่น	HMP	HMPDAC	LMP	LMPDAC
550	168.693	1014.941	1014.941	1014.941	1014.941
560	11.506	1013.345	741.242	225.764	1014.941
570	1.352	69.772	60.76	20.486	275.897
580	0.945	36.779	35.252	12.436	193.065
590	1.664	26.393	25.663	9.585	128.806
610	2.102	24.157	21.267	9.291	93.445
620	0.852	23.283	19.537	8.842	76.657
640	0.624	22.512	17.813	9.581	62.104
650	0.556	21.179	16.517	9.891	58.449
670	0.523	17.921	14.319	10.505	46.604
680	0.417	15.978	12.966	10.255	41.356
700	0.314	11.537	9.551	8.810	30.565

ตารางที่ 24 ความเข้มการวาวแสงของสารตัวอย่างหลังผสมกับไนล์เรด

Wavelength (nm)	ความเข้มการวาวแสง				
	น้ำกลั่น	HMP	HMPDAC	LMP	LMPDAC
550	1014.941	1014.941	1014.941	1014.941	1014.941
560	293.259	816.566	781.941	1009.263	957.387
570	39.369	150.980	202.231	172.891	412.651
580	36.314	154.216	257.909	201.443	502.719
590	42.350	168.810	339.039	258.846	602.144
610	48.210	184.895	425.661	316.665	680.415
620	45.839	168.740	366.540	267.534	583.734
640	35.21	114.801	203.342	143.961	322.725
650	27.834	87.353	135.444	94.749	210.953
670	17.769	53.317	61.357	41.606	93.673
680	14.373	41.329	42.859	28.885	65.593
700	9.113	25.718	21.765	15.180	34.552

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาว กมลรักษ์ ชีวธนากรณ์กุล
ที่อยู่	169/3 ซอย 25 ถนนราชวิถี ตำบลสนามจันทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2547	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จากมหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม
พ.ศ. 2551	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลงานจากวิทยานิพนธ์

บทความเสนอในการประชุมวิชาการ

Cheewatanakornkool K, Niratisai S, Sriamornsak P. "Synthesis and structural characterization of pectin-deoxycholic acid chemical conjugates." Proceedings of the Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON) 2010; 3: 473-476. [Ubon Ratchathani, Thailand, 21-23 January 2010]

Cheewatanakornkool K, Niratisai S, Sriamornsak P. "Pectin-deoxycholic acid conjugates as a novel drug carrier." Proceedings of the 3rd Silpakorn University Research Fair 2010; 3: P215-P219. [Nakhon Pathom, 28-29 January 2010]

บทคัดย่อเสนอในการประชุมวิชาการ

Cheewatanakornkool K, Niratisai S, Sriamornsak P. "Physical characterization and surface activity of hydrophobically modified pectin." The 10th International Hydrocolloid Conference Shanghai, China, 20-24 June 2010.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ผลงานวิจัยอื่น

บทความตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

Sriamornsak P, Thirawong N, Cheewatanakornkool K, Burapapadh K, Sae-Ngow W. "Cryo-scanning electron microscopy (cryo-SEM) as a tool for studying the ultrastructure during bead formation by ionotropic gelation of calcium pectinate." International Journal of Pharmaceutics 2008; 352(1-2): 115-122.

Weerapol Y, Cheewatanakornkool K, Sriamornsak P. "Impact of gastric pH and dietary fiber on calcium availability of various calcium salts." Silpakorn University Science and Technology Journal 2010; 4(1): 17-25.

Sriamornsak P, Nunthanid J, Cheewatanakornkool K, Manchun S. "Effect of drug loading method on drug content and drug release from calcium pectinate gel beads." AAPS PharmSciTech 2010; 11(3): 1315-1319.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทความเสนอในการประชุมวิชาการ

Sriamornsak P, Cheewatanakornkul K. "Acid-induced gelation of low methoxy pectin and calcium ions." Proceedings of the 8th International Symposium on Polymers for Advanced Technologies 2005; 8: 175-176. [Budapest, Hungary, 13-16 September 2005]

Sriamornsak P, Cheewatanakornkool K. "Study on gel properties of pectin extracted from pomelo peel using texture analyzer." Proceedings of the 6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 2008; 6: D9P199 (2 pages). [Barcelona, Spain, 7-10 April 2008]

Sriamornsak P, Cheewatanakornkool K. "Development of matrix tablets using chitosan salts." Proceedings of the 2nd Silpakorn University Research Fair 2008; 2: 549-554. [Bangkok, 18-19 December 2008]

บทคัดย่อเสนอในการประชุมวิชาการ

Sriamornsak P and Cheewatanakornkool K. “Acid-induced gelation of low methoxyl pectin and calcium ions. 1. Effect of concentration and type of calcium ions and GDL concentration.” The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2005; 29(supp): 62.

Sriamornsak P and Cheewatanakornkool K. “Acid-induced gelation of low methoxyl pectin and calcium ions. 2. Study of mechanical properties using small-strain oscillatory and large deformation measurements.” The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2005; 29(supp): 63.

Sriamornsak P, Kuakoon K and Cheewatanakornkool K. “Mechanical properties of high methoxyl pectin gels.” The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2006; 30(supp): 110.

Sriamornsak P and Cheewatanakornkool K. “Dynamic rheology and structure development during gelation of high methoxyl pectin gels.” The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2006; 30(supp): 111.

Sriamornsak P, Thirawong N, Cheewatanakornkool K, Burapapadh K, Sae-Ngow W. “Cryo-Scanning electron microscopic observation of the ultrastructure during bead formation by ionotropic gelation of calcium pectinate.” The 3rd Symposium of Asian Association for School of Pharmacy. Makati, Philippines, 25-28 October 2007.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

Sriamornsak P and Cheewatanakornkool K. “Study on gel properties of pectin extracted from pomelo peel using texture analyzer.” The 1st Silpakorn University Research Fair Nakhon Pathom, 22 November 2007.

Sriamornsak P and Cheewatanakornkool K. “Swelling and erosion of matrices made of chitosan aspartate or chitosan glutamate in different pH media.” The 4th Thailand Pharmacy Congress Bangkok, 6-7 December 2007.

Cheewatanakornkool K, Nunthanid J, Sriamornsak P. “Physical properties of matrix tablets made of different chitosan salts.” The 5th National Chitin-Chitosan Conference Bangkok, 24-25 July 2008.

Weerapol Y, Cheewatanakornkool K, Sriamornsak P. “Effect of type of calcium and dietary fiber on calcium availability of calcium supplement tablets.” The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2008; 32(supp): 61.

Weerapol Y, Cheewatanakornkool K, Sriamornsak P. “Effect of gastric pH on calcium availability of various calcium salts.” Drug Metabolism Reviews 2009; 41(s2): 82.

Weerapol Y, Cheewatanakornkool K, Sriamornsak P. "Effect of gastric pH on calcium availability of various calcium salts." The 3rd Asian Pacific Regional International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX) Meeting Bangkok, 10-12 May 2009.

Sriamornsak P, Nunthanid J, Cheewatanakornkool K. "Controlled drug release from matrix tablets containing chitosan lactate or chitosan glutamate." The 10th International Hydrocolloid Conference Shanghai, China, 20-24 June 2010.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์